

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Postupy vedoucí k obnovení funkce reaktoru pro
anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Šimon Klimuškin

Obor studia: Technologie zpracování a využití odpadů

Vedoucí práce: Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci "Postupy vedoucí k obnovení funkce reaktoru pro anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24.7.2020

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval svému vedoucímu práce Ing. Pavlu Švehlovi, Ph.D. za velmi vstřícný a ochotný přístup při psaní této diplomové práce. Jeho pomoc a trpělivost byla při tvorbě této práce velmi povzbudivá. Ing. Pavlu Míchalovi Ph.D. za ochotný přístup a návrhy na zlepšení a úpravu diplomé práce a ochotu mi věnovat svůj volný čas. Dále Ing. Liz Mabel Vargas Caceres za trpělivost při zaučování mě do chodu laboratorních postupů.

Je také nutné připomenout, že výzkum realizovaný v rámci diplomové práce byl součástí aktivit spojených s řešením projektu podporovaného MZe ČR v rámci NAZV, registrační číslo projektu QK1710176. Rád bych touto formou poděkoval i za ostatní členy týmu poskytovateli dotace za finanční podporu při výzkumu.

Postupy vedoucí k obnovení funkce reaktoru pro anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku

Souhrn

V této diplomové práci byly zkoumány postupy vedoucí k obnově funkceschopnosti reaktoru zpracovávajícího odpadní vodu vzniklou smíšením skládkového výluhu a kalové vody anaerobní oxidací amoniakálního dusíku (tzv. anammox procesem). V rámci pokusu byly sledovány dva reaktory. První reaktor byl zodpovědný za částečnou nitrifikaci odpadní vody a druhý za průběh anaerobní oxidace amoniakálního dusíku. Jednalo se tak o dvoureaktorový systém zpracovávající odpadní vodu s vysokými koncentracemi amoniakálního dusíku.

Zatímco reaktor pro částečnou nitrifikaci fungoval po celou dobu prakticky bez jakýchkoli závažnějších problémů, funkce anammox reaktoru hned v počátcích pokusu vykazovala problémy a neideální průběh procesu. Bylo nutno provést úkony pro obnovu aktivity mikroorganismů procesu anammox v reaktoru. Jednalo se například o úpravu pH, hydraulické doby zdržení odpadní vody, teploty a koncentrací vstupních forem dusíkatého znečištění.

Procesy probíhající v reaktorech byly sledovány a hodnoceny pomocí výsledků chemických analýz zaměřených na sledování koncentrace různých chemických forem dusíku a hodnoty chemické spotřeby kyslíku spektrofotometrickými metodami a stanovení veškerých rozpuštěných i nerozpuštěných látek gravimetrickou metodou. Výsledky potom byly zaznamenány a dle jejich vývoje bylo rozhodováno o postupech aplikovaných za účelem obnovy funkce reaktoru.

Postupy provedené za dobu experimentu však nevedly k plné obnově funkceschopnosti a stabilní anaerobní oxidace amoniakálního dusíku. Průměrné odstranění celkového anorganického dusíku do 93. dne pokusu bylo 88 %. Poté následoval velký propad v hodnotách účinnosti, který byl zaznamenán až do 334. dne pokusu, kdy účinnost odstranění celkového anorganického dusíku opět začala stoupat až k hodnotě 40 % naměřené poslední den pokusu.

Tato práce tedy slouží jako shrnutí současné literatury zaměřené na podmínky pro maximalizaci a udržitelnost částečné nitrifikace a anammox procesu a zároveň s využitím vyhodnocení provedených experimentů popisuje procesy probíhající po inhibici v anammox reaktoru za účelem navrhnout úpravu aplikovaných postupů, které by vedly k obnovení

anammox procesu pro dvou reaktorové systémy pracující v podobných podmínkách jako v této práci.

Klíčová slova: částečná nitrifikace, anammox proces, anammox mikroorganismy, dvou reaktorový systém, inhibice anammox.

Processes leading to the renewal of reactor function for anaerobic ammonium oxidation

Summary

In this master thesis the processes leading to the renewal of performance of reactors which treat waste water which is a result of the combination of landfill leachate and supernatant liquor by means of anaerobic ammonium oxidation (anammox process) were explored. Two reactors were monitored for the purpose of this experiment. The first reactor was responsible for partial nitrification of waste water and the second reactor was responsible for the anaerobic ammonium oxidation. Thus, it was a two-reactor system processing sewage with high concentrations of ammoniacal nitrogen.

While the reactor responsible for partial nitrification functioned virtually without fail for the duration of the experiment. The anammox reactor showed issues and problematic progress of the process from the beginning of the experiment. It was necessary to perform adjustments to renew the activity of microorganisms responsible for the anammox process in the reactor. For example, the adjustment of pH, hydraulic retention time of the waste water, temperature, and concentration of incoming types of nitrogen contamination.

The processes within the reactors were monitored and evaluated using results of chemical analysis used to determine the concentrations of various chemical forms of nitrogen and the value of chemical oxygen demand assessed by spectrophotometric methods as well as determining overall solute and undissolved substances through gravimetric analysis. The results were recorded and according to the development of these results decisions were made about the process of reactor function renewal.

The adjustments, however, did not lead to the full renewal of reactor functioning and stable anaerobic ammonium oxidation. The average value of overall ammoniacal nitrogen was 88% up to day 93 of the experiment. From this point a substantial drop in the efficiency value was present up until day 334 when the efficiency of transformation of inorganic nitrogen rose to 40% measured on the last day of the experiment.

This thesis serves as a summary of current literature focused on the conditions of maximisation and the sustainability of partial nitrification and the anammox process. Furthermore, through the evaluation of the performed experiments it describes processes present after inhibition of the anammox processes allowing for the proposal of modifications to established procedures which would lead to the renewal of the anammox process in two reactor systems functioning in similar conditions to those in this thesis.

Keywords: partial nitrification, anammox process, anammox microorganisms, two reactor system, anammox inhibition

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Vědecká hypotéza a cíle práce.....	2
3	Literární rešerše.....	3
3.1	Odpadní látky obsahující dusík.....	3
3.1.1	Skládkový výluh.....	3
3.1.2	Kalová voda.....	6
3.2	Anammox proces.....	7
3.2.1	Nitriační fáze.....	7
3.2.2	Anammox fáze.....	8
3.3	Anammox organismy.....	8
3.3.1	Přeměněné látky při anammox procesu.....	10
3.3.2	Mikrobiální společenstva anammox reaktoru.....	10
3.4	Technické provedení systému využívajících anammox proces.....	10
3.4.1	Jednoreaktorové systémy.....	10
3.4.2	SBR.....	11
3.4.3	MBBR.....	11
3.4.4	Problematika jednoreaktorových systémů.....	12
3.4.5	Dvoureaktorové systémy.....	13
3.4.6	Problematika dvoureaktorového zapojení.....	13
3.5	Kultivace kalu.....	13
3.6	Postupy vedoucí k udržitelnosti anammox procesu.....	15
3.6.1	Potlačení NOB.....	15
3.6.2	Vliv teploty na PN a anammox proces.....	16
3.6.3	Inhibice anammox procesu.....	17
3.6.4	Kolaps a obnovení anammox procesu.....	19
4	Metodika.....	22
4.1	Funkce PN a anammox reaktorů.....	22
4.1.1	Zkrácená nitrifikace.....	22
4.1.2	Anammox fáze.....	23
4.1.3	Aplikované procesy pro obnovu aktivity AN-1.....	24
4.2	Analytické metody.....	25
4.2.1	Stanovení teploty.....	25
4.2.2	Stanovení hodnoty pH.....	25
4.2.3	Stanovení rozpuštěného kyslíku.....	25
4.2.4	Stanovení chemicky oxidovatelného znečištění dichromanem draselným (semimikrometoda).....	25

4.2.5	Stanovení amoniakálního dusíku	25
4.2.6	Stanovení dusitanového dusíku	26
4.2.7	Stanovení dusičnanového dusíku	26
4.2.8	Stanovení veškerých, rozpuštěných a nerozpuštěných látek	26
4.2.9	Gravimetrické stanovení rozpuštěných látek (RL)	26
4.2.10	Gravimetrické stanovení nerozpuštěných látek (NL)	27
4.3	Výpočty	27
4.3.1	Efektivita odstranění N-amon, N-NO ₂ ⁻ , N-NO ₃ ⁻ a N-anorg	27
4.3.2	Objemové zatížení	27
4.3.3	Procentuální vyjádření přeměny N-amon na NO ₂ ⁻	27
4.3.4	Procentuální přeměna N-amon a N-NO ₂ ⁻ na N-NO ₃ ⁻	28
5	Výsledky	29
5.1	M7 systém	29
5.1.1	Vlastnosti vstupní vody do systému M7	29
5.1.2	Koncentrace N-amon ve vstupní vodě M7 systému	29
5.1.3	Hodnota pH vstupní vody v M7 systému	29
5.2	Vyhodnocení funkce M7	31
5.2.1	Koncentrace jednotlivých forem dusíku v odtoku z reaktoru M7	31
5.2.2	Účinnost přeměny N-amon na N-NO ₂ ⁻	32
5.2.3	Objemové zatížení v M7 systému amoniakálním dusíkem	33
5.3	AN-1 systém	34
5.3.1	Změna teploty v průběhu pokusu	34
5.3.2	Úprava poměru koncentrací amoniakálního a dusitanového dusíku	35
5.3.3	Koncentrace jednotlivých forem dusíkatého znečištění na přítoku do AN-1 reaktoru	37
5.3.4	Hodnota pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku v AN-1 reaktoru	38
5.3.5	Koncentrace jednotlivých forem N znečištění na odtoku z AN-1 reaktoru	39
5.4	Procesy realizované za účelem obnovení funkce v AN-1 reaktoru	40
5.5	Účinnost přeměny a odstranění N forem znečištění v AN-1 reaktoru	41
5.5.1	Odstranění celkového anorganického dusíku	42
5.5.2	Účinnost odstranění N-amon a N-NO ₂ ⁻ AN-1 reaktorem	43
5.5.3	Účinnost odstranění N-NO ₃ ⁻ v AN-1 reaktoru	44
6	Diskuze	45
6.1	Systém M7 pro částečnou nitrifikaci a kumulaci dusitanového dusíku	45
6.1.1	Vyhodnocení funkce systému M7	45
6.1.2	Potenciál nitrifikačního reaktoru a úpravy	46
6.2	Systém AN-1 pro anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku	47
6.2.1	Vyhodnocení funkce AN-1 systému	47
6.2.2	Potencionální zvýšení efektivity a udržitelnosti anammox procesu	51

7 Závěr	52
8 Literatura.....	53

1 Úvod

V dnešním světě se stále rostoucí populací je voda predikována jako komodita s nabírající hodnotou. Udržitelné hospodaření a její úprava na co možná nejnižší saprobní úroveň je tedy výzvou naší doby. Na většině čistíren odpadních vod (ČOV) je používána konvenční metoda odstranění dusíkatého znečištění (N znečištění) z odpadní vody. Ta využívá procesů nitrifikace a denitrifikace. Nitrifikační proces probíhá v aerobním prostředí bez spotřeby organické hmoty. Denitrifikace probíhá v anaerobním prostředí a dochází ke spotřebě organické hmoty. Ekonomicky nejdrazším procesem na ČOV je aerace a poté ekonomické náklady vzniklé dodáváním organické hmoty pro funkci denitrifikačních mikroorganismů. Obě tyto složky snižuje systém pracující na principu částečné nitrifikace, anglicky partial nitrification (PN) a anaerobní oxidace amoniakálního dusíku (anammox).

Čištění odpadní vody na tomto principu využívá vlastností anammox mikroorganismů, kteří dokáží využít N-NH_4^+ jako dárce elektronu a N-NO_2^- jako akceptor elektronu s 11 až 13% produkcí N-NO_3^- . N-NO_2^- , neboli dusitanový dusík vzniká v první fázi nitrifikace, neboli nitritace. Nitrifikace je tedy ukončena na prvním stupni a aerační nároky jsou tak sníženy o 50 až 60 % oproti celkové nitrifikaci.

Ve druhém kroce dochází k využití anammox mikroorganismů, které dokáží přeměnit vstupní formy N znečištění na plynný dusík s nízkou produkcí N-NO_3^- bez nutnosti dodávat organický substrát, jelikož anammox organismy jsou chemolitoautotrofní. Tak je tomu v ideálním případě. Anammox organismy a celkový proces jsou však poměrně těžko udržitelné, a to z více důvodů.

Prvním důvodem je jejich dlouhá doba množení, konkrétně je průměrná doba dvojení těchto mikroorganismů udávána v rozmezí od 7 až 20 dnů. To komplikuje nejen aktivační proces v začátcích procesu, ale posléze potencionální obnovu aktivity mikroorganismů.

Druhým problémem je ideální teplota pro výskyt a růst těchto mikroorganismů. Tato teplota je nejběžněji udávána na 30 °C. Pro celoroční funkci na ČOV je tedy tato teplota velkým problémem s příchodem zimních měsíců a chladnějších teplot odpadní vody.

Z literatury a praxe jsou dostupné informace a možnosti aklimatizace anammox mikroorganismů na inhibiční podmínky. Při aklimatizaci je však důležité předejít nevratné inhibici procesu a udržení podmínek pro ideální chod anammox procesu. Mezi hlavní strategie udržení efektivity procesu patří manipulace s koncentracemi rozpuštěného kyslíku, kontrola pH, jehož ideální rozmezí je mezi hodnotou 7,8 až 8 a kontrola hodnot objemového zatížení (B_v) jednotlivých forem N znečištění. Mezi další postupy ovlivnění anammox procesu patří volba mezi jedno nebo dvou reaktorovým systémem, typ reaktoru, kultivace biomasy a retenční doba odpadní vody v reaktoru.

Kolísavost efektivity a inhibiční procesy jsou na systémech využívajících PN/anammox dokumentovány prakticky vždy. Je důležité systém aklimatizovat na určité pracovní podmínky a snažit se o jejich udržení.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Vědecká hypotéza této práce byla prozkoumat soubor aplikovatelných postupů pro obnovení funkce anammox reaktoru. Přednostně bude využito kontroli koncentrací rozpuštěného kyslíku, pH, koncentrací N znečištění, retenční doby odpadní vody a teploty odpadní vody. Práce vychází z hypotézy o ulehčení provozu PN/anammox systému při rozdělení obou procesu do separovaných reaktorů a z potenciální schopnosti obnovení aktivity u mikrobiálních skupin. U PN se jedná o AOB (amoniak oxidující bakterie) a u anammox procesu jde o anammox bakterie.

Cílem práce je obnovení anammox procesu v reaktoru zpracovávající odpadní vodu vzniklou smíšením kalové vody produkované ČOV v obci Rybitví a skládkového výluhu ze skládky ve Zdechovicích, která je poblíž ČOV Rybitví. Práce zkoumá možnost aplikace PN/anammox a její dlouhodobé fungování pro aplikaci na ČOV Rybitví. Je očekáváno že použitím výše zmíněných postupů dojde k reaktivaci anammox procesu a jeho aklimatizaci na podmínky stanovené pro tuto práci.

3 Literární rešerše

3.1 Odpadní látky obsahující dusík

Dusík je nejčteněji zastoupený chemický prvek v atmosféře, jeho celkové zastoupení dosahuje až k 80 %. Je esenciálním prvkem pro existenci klíčových biomolekul jako například aminokyseliny a nukleotidy. Vyšší koncentrace anorganického dusíku ve vodě většinou zvyšují životní produkci, to se může projevovat jako rostoucí množství primárních konzumentů. Avšak koncentrace dusíku mohou překročit určitou mez, po které ekologické systémy již nejsou schopny dusík asimilovat a může se to negativně projevit na některých organismech. Jedním z prostředí, kde může být dusík škodlivý, je akvatické prostředí (Camargo & Alonso 2006).

Nejběžnější formy rozpuštěného dusíku přítomného ve vodních zdrojích jsou (NH_4^+ , NH_3 , NO_2^- , NO_3^-). Důvodů pro přítomnost forem dusíku ve vodních zdrojích je více, například atmosférická depozice, povrchové a podpovrchové splachy, fixace atmosférického dusíku určitými prokaryoty nebo rozklad organické hmoty. Více závažným zdrojem dusíkatého znečištění je však antropogenní činnost. Například odpadní voda z chovu dobytka, splaškové a industriální vody, odpadní toky ze skládek a těžebních míst nebo použití dusíkatých hnojiv na zemědělských plochách (Jensen 2003, Camargo & Alonso 2006).

Dusík ve vodním prostředí způsobuje tři hlavní problémy. Prvním problémem je, že anorganické dusíkaté znečištění, převážně amoniakální dusík (N-amon), může být nitrifikačními organismy metabolizován na dusitanový dusík. Při této reakci dochází k produkci vodíkových iontů. Tyto vodíkové ionty ovlivňují pH, respektive jeho snižující se hodnotu a vedou tak k acidifikaci vodního ekosystému.

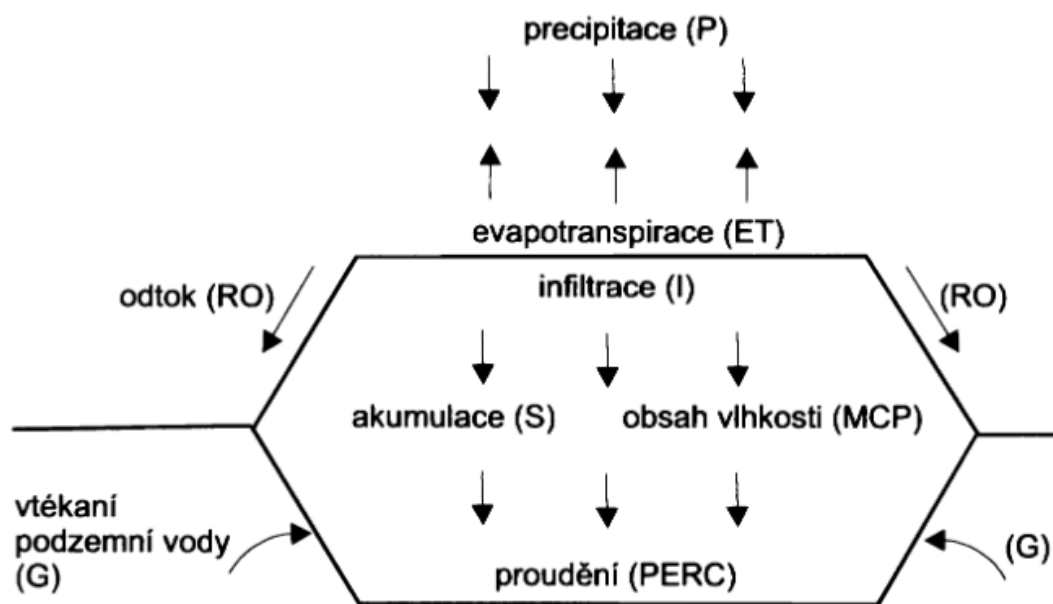
Zvýšená koncentrace anorganického dusíku společně s vyššími koncentracemi fosforu, vede k eutrofizaci, která může mít za důsledek například nárůst sinic. Ty produkují toxiny, které jsou škodlivé pro určité obyvatele vodních ekosystémů prostředí (Camargo & Alonso 2006).

Třetím důvodem je možné omezení či poškození vlastností vodních organismů, jako například schopnost růstu a reprodukce. Polutanty mohou vést až k usmrcení organismů. Mezi časté následky dusíkatého znečištění patří hemolýza a poruchy centrální nervové soustavy. Pro ryby je konkrétně nejvíce toxická forma NH_3 (Kouba & Bartáček 20019).

3.1.1 Skládkový výluh

Deponace odpadu na skládkách s sebou nese povinnost odstraňovat skládkové emise. Ty se dělí na skládkový výluh a skládkový plyn. Dusíkaté látky jsou posléze z deponovaného odpadu přeneseny právě do skládkového výluhu, který musí být dále těchto látek zbaven. Skládkový výluh vzniká na území skládky a posléze je sváděn a odváděn z území skládky drenážním systémem. Voda hraje ve skládkovém prostředí významnou roli, jelikož se aktivně podílí na vyplavování a louhování odpadu umístěného na skládku. Voda je součástí chemických a biochemických procesů a fyzikálně působí na určité části samotné skládky. Složení vodního výluhu skládky se může lišit. Záleží na složení deponovaného materiálu (Yong Xu et al. 2010).

Skládkový výluh vzniká prakticky z jakéhokoli deponovaného materiálu, do kterého může proniknout voda. Voda, která vnikne do odpadních materiálů rozpustí a mobilizuje rozpustitelné složky. Když je dosaženo dostatečné vlhkosti v objemu odpadu, dochází k počátku proudění tekutiny. Voda, která může ovlivnit rozpuštění materiálu, může být voda, která je obsažena v deponovaném odpadu, srážková voda, voda, která vstoupila do podzemního prostoru skládky (infiltrace), a voda vzniklá při reakcích spojených s rozkladem odpadu (Farquhar 1989). Schéma procesů probíhajících na skladce odpadů je možno vidět na obr. č. 1.



Obr. č. 1 Schéma tvorby skládkového výluhu
Zdroj: Skálová 2004

Kvalita skládkového výluhu je ovlivňována více faktory, jako je věk skládky, srážky, sezonní změny teplot, typ odpadu a jeho složení. Srážky mohou do prostoru skládky vnášet polutanty obsažené v atmosféře.

Srážková voda je faktor nejvíce ovlivněn lokací, ve které se mohou vyskytovat zdroje znečištění. Věk skládky se projevuje rozdílným složením látek. Například u mladých skládek s vysokým obsahem biodegradabilního materiálu, je běžná rychlá anaerobní fermentace, která vede k tvorbě nižších mastných kyselin. Tento proces je urychlen vyšším obsahem vody v odpadu (Wang et al. 2003, Kulikowska & Klimiuk 2008). Jako charakterizační parametry pro hodnocení skládkového výluhu nejčastěji slouží chemická spotřeba kyslíku (CHSK), biochemická spotřeba kyslíku (BSK), poměr BSK/CHSK, pH, koncentrace rozpuštěných solí, koncentrace amoniakálního dusíku (N-amon) a celkového dusíku a koncentrace těžkých kovů (Renou et al. 2008).

V práci od Kulikowska & Klimiuk (2008), která shrnuje dřívější literaturu se zaměřením na kvalitu skládkového výluhu ve vztahu k věku skládky, je uvedeno, že mladé skládky se vyznačují vyšší hodnotou CHSK než starší. Hodnota CHSK může u mladých skládek převyšovat 10 000 mg/l, zatímco skládky starší 10 let se vyznačují hodnotou CHSK nižší než 3 000 mg/l. Jsou evidovány i příklady mladých skládek s nízkou hodnotou CHSK. Tento fakt však může být způsoben recirkulací skládkového výluhu. Recirkulace prokazatelně snižuje hodnotu CHSK. Předmětem práce Kulikowska & Klimiuk (2008) bylo zkoumání změn vlastností skládkového výluhu po dobu 4 let na skládkovém výluhu skládky staré dvacet tři měsíců. Složení deponovaného materiálu bylo 32 % komunálního odpadu, 14 % skla, 12,2 % tvořil papír, 4,4 % plast, 3,07 % kovy a 2,75 % textilní materiál. V prvním měsíci měření byla hodnota CHSK stanovena na 1 800 mg/l. V posledním měsíci měření hodnota klesla na 610 mg/l. Dalším faktem, který vysvětluje nižší hodnotu CHSK u relativně mladých skládek, je

odůvodněn urychlenou metanogenní fází. Ta může nastat rychleji, kvůli rozdílnému stupni biodegradability organického materiálu (Marttinen et al. 2003). Na rozdíl od klesajícího CHSK s věkem skládky, koncentrace amoniakálního dusíku, který je brán jako hlavní polutant ve skládkovém výluhu, roste. V tab. č. 1 jsou uvedeny hodnoty CHSK a amoniakálního dusíku na různých a věkově rozdílných skládkách komunálního odpadu. Všechny hodnoty jsou uvedeny v mg/l.

Věk skládky	Destinace	CHSK	N-amon
Mladá	Kanada	13 800	42
Mladá	Hong Kong	15 700	2 260
Mladá	Itálie	19 900	3 917
Středně stará	Německo	3 180	884
Středně stará	Taiwan	6 500	5 500
Středně stará	Řecko	5 350	940
Stará	Brazílie	3460	800
Stará	Francie	500	430
Stará	Jižní Korea	1 409	1 522

Tab. č. 1 Koncentrace CHSK a N-amon na komunálních skládkách odpadu
Zdroj: Renou et al. 2008

Amoniakální dusík se dostává do skládkového výluhu ve formě rozpuštěného dusíku z komunálního odpadu spolu s rozpuštěnými organickými látkami. V mladých skládkách je amoniakální dusík přítomen díky deaminaci aminokyselin vznikajících při rozkladu organické hmoty. Skládkový výluh starších skládek je bohatý na amoniakální dusík díky hydrolýze a fermentaci biodegradabilních dusíkatých látek (Carley & Mavinic 1991). V práci Kulikowska & Klimiuk (2008) byla ve zkoumaném skládkovém výluhu také měřena koncentrace amoniakálního dusíku. Koncentrace v prvním měsíci měření byla 98 mg/l a v posledním měsíci na konci měření dosahovala 364 mg/l. V práci od Chu et al. (1994) je uvedeno, že po uplynutí období mezi třemi až osmi roky se koncentrace amoniakálního dusíku ustálí na hodnotě 500 až 1 500 mg/l a zůstane taková po dobu nejméně padesáti let.

Produkce skládkového výluhu také souvisí se zhutňováním odpadu ukládaného v tělese skládky. Pokud je materiál vystaven vyššímu tlaku při procesu zhutňování, dochází k silnější kompresi a dochází k vytlačení většího objemu vody z deponovaného odpadu. Složení skládkového výluhu je ovlivňováno určitými faktory, mezi které patří intenzita srážek, sezonní teplotní změny, typ odpadu a stáří skládky. Dalším faktorem je také samotná kvalita skládky, a to ve smyslu zabezpečení. Pokud jsou dodržena všechna bezpečnostní opatření, jediným faktorem, který může ovlivnit složení výluhu, jsou srážky. Tento faktor může být také zamezen překrytím, které nebývá často využíváno, jelikož srážkové vody mají tendenci ředit skládkový výluh, a tudíž snižovat znečištění skládkového výluhu. Pokud je skládka špatně zabezpečena, může docházet k ovlivnění podzemních i povrchových vod.

Vodní režim skládky má určitou posloupnost. Nejprve dochází k nasycení vodní kapacity, tento proces trvá přibližně od jednoho až do 3 roků. Po překročení tohoto období dochází k výronu skládkového výluhu (Malý & Šálek 2002). Každý druh odpadu, který je deponován na skládce, může do výluhu vypustit jiné druhy látek. Skládkový výluh může

obsahovat jak organické, tak anorganické znečištění, oboje především v rozpustné formě (Kulikowska & Klimiuk 2008).

Dalším běžným jevem pozorovaným na skládkových výluhích je klesající hodnota BSK₅ ku CHSK, což značí snižující se biologickou rozložitelnost skládkových výluhů v průběhu času. Skládkový výluh často obsahuje huminové látky. U skládek, jejichž doba užívání překračuje 5 let, jsou huminové látky dominantně zastoupeny (Honzájková et al. 2011). Z anorganických látek se ve skládkovém výluhu také mohou vyskytovat vyšší koncentrace kovů, včetně rizikových prvků. Dále může obsahovat amoniakální soli, které jsou generovány organismy odpovědnými za mineralizaci organického dusíku. Často obsažené prvky, které však nejsou markantně vysokým rizikem pro prostředí, jsou například ionty vápníku, boru, hořčíku, stroncia, barya, uhličitanu a mohou být přítomny i železité ionty. Tyto ionty je důležité sledovat z důvodu potenciální tvorby nerozpustných sloučenin, které mohou posléze zhoršovat proces čištění skládkového výluhu, ke tvorbě nerozpustných sloučenin dochází jen v určitých podmínkách. Jsou zde zastoupeny i obsahy jednomocných iontů.

Mezi často používané metody odstranění amoniakálního znečištění patří proces využívající nitrifikaci a denitrifikaci. Ten však nese značné náklady vzniklé při aeraci nitrifikační fáze a dodáváním organického substrátu pro organismy v denitrifikační fázi (Zhi-Chi et al. 2018). Tato metoda je velmi často využívána v čistírnách odpadních vod (ČOV). Hovoříme o takzvané konvenční metodě čištění odpadních vod. Další méně používané metody jsou stripování vzduchem, vysrážení ve formě struvitu a inovativní postupy využívající proces zkrácené nitrifikace a anammox mikroorganismů (Mohammad-pajooh et al. 2017).

3.1.2 Kalová voda

Kalová voda je charakterizována jako kapalná fáze kalu vzniklém na ČOV. K oddělení od pevné složky kalu dochází dvěma způsoby. Zahušťováním kalu nebo jeho mechanickou separací. Zahušťování kalu probíhá podobně jako u sedimentačních nádrží. Kal je usazován ode dna nádrže a kapalná složka se vytlačována na povrch. Tento způsob separace však není velmi účinný. Mnohem účinnější je proces mechanické separace, který může být proveden kalolisy nebo odstředivkami. Složení kalové vody je velmi variabilní, stejně jako složení kalu z ČOV. Kal se také svým složením liší podle stupně, na kterém vzniká. Vzniká primární a sekundární kal. Do procesu anaerobní digesce však nejčastěji vstupuje kal surový vzniklý smíšením těchto dvou druhů kalů. Proces anaerobní digesce a její aplikace se používá pro hygienizaci surového kalu. Po procesu anaerobní digesce je surový kal zahušťováním nebo mechanicky odvodněn. Charakteristickou vlastností pro kalové vody je vysoký obsah N-amon a nízký poměr organických látek díky aplikaci anaerobní digesce. Obecně se udává koncentrace 1000 mg/l N-amon kalové vody (Švehla 2004). Jelikož je pro anammox proces vhodný substrát odpadní voda s vysokým obsahem N-amon a nízkými koncentracemi CHSK (Lotti et al. 2014, Zhang et al. 2017). Při čištění N znečištění kalových vod je možno použít metodu s využitím termálních hydrolyzních procesů. Ta spočívá v zahřívání kalu před procesem anaerobní digesce na teplotu až 180 °C po dobu až 30 min. Tím je dosažena vyšší míra rozkladu organických látek, které jsou poté převedy na N-amon a zároveň je snížena hodnota CHSK (Han et al. 2020). Takto vzniklá kalová voda může být poté opět čištěna na ČOV, ale vysoké koncentrace N-amon mohou činit problém pro mikrobiální organismy neboli, kalová voda zvedá celkové koncentrace N znečištění (převážně N-amon). Při nesprávném dávkování může dojít například k inhibici koncentracemi N-amon.

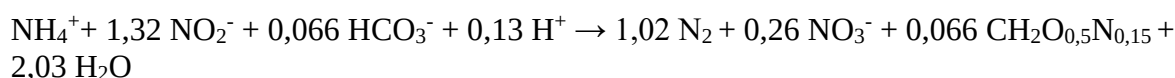
Nakládání s kalovou vodou má více možností. Nejvíce používaným řešením je recirkulace kalové vody zpět před aktivací nádrží a posléze její využití v aktivacím procesu. Dávkování však musí být přesné a kalová voda se recirkuluje zpět do systému obvykle v nočních hodinách, kdy je zatížení ČOV nižší než přes den.

Může být také použita jako závlaha s hnojným efektem, díky obsahu rozpuštěných a suspendovaných látek. Může být využita při splnění agrotechnických a legislativních nároků (Chudoba et al. 1991).

Kvůli zvyšování objemového zatížení N formami dusíku na ČOV recirkulací kalové vody a potencionální inhibici mikrobiálních skupin zodpovědných za metabolizaci znečištění je moderní metoda zpracovávat kalovou vodu ve odděleném systému nežli hlavní proud odpadní vody. Han et al. (2020) popisuje PN/anammox metodu vzhledem k vysokým koncentracím a nízké CHSK jako vhodný substrát.

3.2 Anammox proces

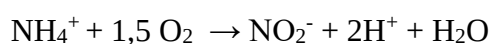
První informace o anammox (anaerobic ammonium oxidation) organismech se datují ke konci 90. let dvacátého století, kdy byla v Holandsku zdokumentována přítomnost organismů schopných zajišťovat tento proces. První akreditovaný systém byl dokončen na přelomu roku 2001 a 2002 a to v Německu a Nizozemsku. Anammox mikroorganismy metabolizují formy amonného a dusitanového dusíku na atmosférický dusík (N_2). Podrobný průběh vyjádřený rovnicí je znázorněn o řádek níže (Strous et al. 1998).



Místo použití termínu anammox se dá také použít termín deamonifikace. Systémy, které využívají anammox proces, jsou rozděleny do dvou hlavních kategorií, a to na jedno reaktorové a dvou reaktorové systémy (Zhang et al. 2019). Proces se však vždy skládá ze dvou fází, a to první části nitrifikace neboli nitritace. Do angličtiny přeloženo jako partial nitrification (PN) a anammox proces, při kterém dochází k anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku (Tomaszewski et al. 2017).

3.2.1 Nitriační fáze

Zde dochází k přeměně části N-amon na dusitany za pomoci amoniak oxidujících bakterií (AOB). Rovnice chemického procesu nitritace je zobrazena níže (Kouba a Bartáček 2019).



Při použití systému využívajícího PN a anammox procesu na splaškových a kalových vodách uvádí studie od Kouba & Bartáček (2019) situaci, kdy nitritační bakterie zoxidují 57 % $N-NH_4^+$ na $N-NO_2^-$. Při tomto zkráceném procesu dochází k úspoře energie vynaložené na aeraci reaktoru oproti kompletní nitrifikaci o 50–60 %. Hlavním důvodem je, že bakterie biochemicky oxidují pouze část amoniakálního dusíku, a proces je zakončen na dusitanovém stupni. Toto srovnání je námířeno na konvenční způsob úpravy odpadní vody, který se skládá z kompletní nitrifikace a denitrifikace (Bowden et al. 2015)

Důležitá pro celý proces je kumulace dusitanů, které potom slouží v dalším kroku (anammox procesu) jako akceptory elektronů. Aby se udržel ideální poměr mezi přeměněným N-amon a vzniklými dusitany, je potřeba zajistit absenci aerobních dusitan oxidujících bakterií. V angličtině je obecně známější zkratka NOB – nitrite oxydidzing bacterias (Kouba & Bartáček 2019, Guo et al. 2009).

3.2.2 Anammox fáze

Ve druhé fázi dochází k využití anammox bakterií neboli anaerobně amoniak oxidující bakterie. Tyto bakterie dokáží využít N-NO_2^- jako akceptor elektronů a N-NH_4^+ jako dárce elektronu a produkovat N_2 a malé množství N-NO_3^- . Statisticky se přemění 89 % z koncentrací amoniakálního a dusitanového dusíku na N_2 a 11 % na NO_3^- a minimální množství amoniaku je využito jako substrát pro růst biomasy. Tento poměr platí při deammonifikaci kalové vody (Bowden et al. 2015). Takto jsou koncentrace amoniakálního a dusitanového dusíku schopny zpracovávat pouze anammox organismy, přesto v anaerobních podmínkách, ve kterých anammox probíhá nejsou jedinnou mikrobiální skupinou. Často je v literatuře uvedena přítomnost denitrifikačních bakterií v anammox reaktorech (Malovanyy et al. 2015). Důležitým rozdílem mezi anammox a denitrifikačními bakteriemi je, že anammox bakterie jsou chemolitotrofní organismy a denitrifikační bakterie jsou heterotrofními organismy. Více je uvedeno v kapitole Anammox organismy.

Jako další výhoda je uvedena snížená tvorba přebytečného kalu, která klesá až o 80 % oproti denitrifikačnímu procesu. Kouba & Bartáček (2019) uvádí, že systém anammox převádí 13 % ze vstupního dusíku na dusičnany. V práci od Bowden et al. (2015) se setkáváme s hodnotou 11 %, což může být však způsobeno různým složením vstupní vody. PN-anammox metoda se podle dostupných zdrojů používá na více než 150 čistírnách ČOV.

3.3 Anammox organismy

Do roku 2017 bylo identifikováno 7 rodů anammox bakterií z kmene *Planctomycetes* a *Brocadiales*. Určité rody jsou sladkovodní, jiné mořské. Většina rodů anammox bakterií byla prvotně identifikována z odpadních systémů čistících odpadních vod. Mikrobiální složení kalů je velmi variabilní, jelikož každá ČOV pracuje s jinou vstupní odpadní vodou, tudíž i složení kalů a primární zastoupení kmenů bakterií se liší. (Pereira et al. 2017). Přehled doposud zdokumentovaných rodů poskytuje tabulka č. 2.

Rod – genus	Druh – specie	Oblast
<i>Candidatus Kueneia</i>	<i>Ca. Kueneia stuttgartiensis</i>	ČOV
<i>Candidatus Brocadia</i>	<i>Ca. Brocadia anammoxidans</i>	ČOV
	<i>Ca. Brocadia fulgida</i>	ČOV
	<i>Ca. Brocadia sinica</i>	ČOV
	<i>Ca. Brocadia brasiliensis</i>	ČOV
	<i>Ca. Brocadia sp. 40</i>	ČOV
	<i>Ca. Brocadia caroliniensis</i>	ČOV
<i>Candidatus anammoxoglobus</i>	<i>Ca. Anammoxoglobus propionicus</i>	ČOV

	<i>Candidatus anammoxoglobus sulfate</i>	ČOV
<i>Candidatus Jettenia</i>	<i>Ca. Jettenia asiatica</i>	Sladkovodní toky
	<i>Ca. Jettenia caeni</i>	ČOV
	<i>Ca. Jettenia moscovienalis</i>	ČOV
	<i>Ca. Jettenia</i>	ČOV
<i>Candidatus Brasilis</i>	<i>Ca. Brasilis concordiensis</i>	ČOV
<i>Candidatus Scalindua</i>	<i>Ca. Scalindua brodae a Ca. Scalindua wagneri</i>	ČOV
	<i>Ca. Scalindua sorokonii a Ca. Scalindua arabica</i>	Toky s minimální hodnotou rozpuštěného kyslíku
	<i>Ca. Scalindua sinoofield</i>	Vysoko teplotní hlubinné rezervoáry
	<i>Ca. Scalindua zhenghei</i>	Hlubokomořské sedimenty
	<i>Ca. Scalindua marina</i>	Mořské sedimenty
	<i>Ca. Scalindua richardsii</i>	Sub-oxické mořské oblasti
	<i>Ca. Scalindua profunda</i>	Mořské sedimenty
<i>Candidatus Anammoximicrobium</i>	<i>Candidatus Anammoximicrobium moscowii</i>	Sladkovodní toky

Tab. č. 2 Přehled rodů, druhů a oblastí, ze kterých byly anammox bakterie kultivovány.
Zdroj: Pereira et al. (2017)

Anammox bakterie mají kokovitý tvar o průměru přibližně 1 μm . Determinačním znakem je, že jsou chemolitoautotrofy, což je u kmene *Planctomycetes* unikátní. Podle využití kyslíku jsou zařazeny do skupiny obligátních anaerobů. Jejich typické červené zbarvení je dáno přítomností proteinu typu cytochrom C, který je v jejich buňkách obsažen z 30 %. (Vodičková 2018). Hrají důležitou roli při uvolňování N_2 zpět do atmosféry. Jsou pro koloběh dusíku na zemi tudíž nepostradatelnými organismy (Pereira et al. 2017). Například dle studie od Damsté et al. (2007) z mořských sedimentů anammox organismy uvolňují 24–67 % z celkové produkce dusíku.

Doba zdvojení je pro chod anammox procesu důležitá, je možné říci, že s kratší dobou zdvojení bude docházet k rychlejší aklimatizaci organismů na podmínky v daném prostředí či na obnovení aktivity po inhibici aktivity. Doba zdvojení jednotlivých rodů se liší. Například doba zdvojení *Ca. Brocadia anammoxidans* je stanovena na 11 dní. *Ca. Keunenienia stuttgartensis* je stanovena mezi 8 až 11 dny. *Ca. Brocadia sinica* 7 dní. *Ca. Brocadia sp.* 40 pouze 2,1 dne. Mezi rody s větší dobou zdvojení patří například *Ca. Anammoximicrobium moscowii* s 32 dny. Dále *Ca. Jettenia moscovienalis* s 28 dny (Pereira et al. 2017).

Obecně dané ideální podmínky pro růst anammox bakterií jsou pro pH mezi 6,7 až 8,3 a teploty pohybující se mezi 20 až 43 °C. Přesto jsou schopny přežít v teplotách až od -2 do 85 °C (Gao & Tao 2011). Prostředí, ve kterém se anammox bakterie vyskytují, můžeme rozdělit na dvě hlavní kategorie. Kromě sladkovodního a mořského prostředí, rozdělujeme tyto bakterie na přírodní a uměle kultivované. Do přírodních spadají mořské, brakické vody a sladkovodní a půdní ekosystémy. Mezi uměle vytvořené pak řadíme převážně odpadní systémy z ČOV.

3.3.1 Přeměněné látky při anammox procesu

Při anammox procesu dochází k transformaci amoniakálního a dusitanového dusíku až na plynný N_2 . Tento proces však obsahuje intermediální prvky, neboť nedochází k přímé transformaci těchto N forem na N_2 . Tento proces řídí genomy obsažené v buňkách anammox bakterií. Na začátku reakce je dusitanový dusík převeden na oxid dusnatý (NO) za pomoci nitrit reduktázního enzymu. Dále reaguje amoniak s oxidem dusnatým a vytváří hydrazin (N_2H_4). Tato reakce je katalyzována hzs enzymem (hydrazine synthase) a následně hydrazine oxireduktáza katalyzuje oxidaci hydrazinu na plynný N_2 (Gao et al. 2011).

3.3.2 Mikrobiální společenstva anammox reaktoru

Je nutné poznamenat, že mikrobiální zastoupení se liší s rozdělením PN/anammox na dvou reaktorové a jednoreaktorové systémy. Viz kapitola jedno reaktorové a dvoureaktorové systémy. V reaktorech vymezených jen pro proces anammox jsou nejčastěji detekovány kromě anammox mikroorganismů také denitrifikační bakterie. Ty jsou přítomny převážně u systému čistících vody s vyššími koncentracemi organického znečištění. Je dokumentována prospěšnost velmi procentuální aktivity denitrifikačních bakterií, pokud denitrifikační bakterie svoji aktivitou neinhibují anammox mikroorganismy poté přispívají k odstranění celkového anorganického dusíku a snížení organického znečištění (Malovany et al. 2015; Lotti et al. 2014).

Mezi méně známé organismy patří comammox (complete ammonia oxidizers). To jsou organismy, které byly objeveny a kultivovány z rodu *Nitrospira*. Jsou chemolitoautotrofní stejně jako anammox organismy a dokáží oxidovat amoniakální dusík na dusitanový dusík. Na základě literatury je naznačené, že comammox bakterie preferují studenější vody, nízké koncentrace dusíkatého substrátu a vysoké koncentrace rozpuštěného kyslíku (Palomo et al. 2016, Chao et al. 2016). Jedná se o druhy *Candidatus Nitrospira nitrosa* a *Candidatus Nitrospira nitrificans*. (Zhang et al. 2017).

3.4 Technické provedení systému využívajících anammox proces

Mezi nejznámější provedení patří tyto systémy.

1. PN/anammox, kdy jsou procesy rozděleny do dvou samostatných reaktorů.
2. Aerobní a anoxická deammonifikace, kde proces běží v jednom reaktoru na principu střídavých cyklů.
3. Kompletně autotrofní odstranění dusíku z nitrátů, kde reakce běží souběžně v jednom reaktoru.

Uspořádání reaktorů lze rozdělit do dvou hlavních skupin na jednoreaktorové a dvoureaktorových systémy (Gonzales et al. 2015).

3.4.1 Jednoreaktorové systémy

Z názvu je patrné, že jednoreaktorové systémy jsou složeny pouze z jednoho hlavního reaktoru, tím je myšlen reaktor, kde probíhá odstranění znečištění. Je obvyklé, když jednoreaktorové systémy používají SBR (sequencing batch reactor) nebo MBBR (Moving bed biofilm reactor). Použití určitého reaktoru se neváže na jedno nebo dvoureaktorový systém. Je čistě na provozovateli, jakou variantu zvolí. Chemické procesy pro PN a anammox zůstávají

neměnné. Přesto však různé reaktory disponují specifickými výhodami (Arrigada et al. 2017). SBR a MBBR jsou často používané reaktory jak jedno, tak i dvou reaktorových systému.

3.4.2 SBR

Neboli do češtiny přeložen jako semikontinuální biologický. Metabolické procesy a separace kapalná a pevná fáze pak probíhá stále v jednom reaktoru v přesně definovaných opakujících se cyklech. Jeho výhodou jsou například celkové náklady na provoz, oproti konvenčnímu reaktoru pro aktivovaný kal jsou náklady na provoz sníženy o 60 %. Procento odstranění biochemicky oxidovatelného znečištění u SBR se suspendovaným kalem dosahuje stabilních 90 %, kdežto u konvenčního reaktoru se suspendovaným kalem je účinnost odstranění BSK₅ v širší škále a úspěšnost kolísá mezi 60 až 95 %. SBR jsou charakterizovány střídáním cyklů. Tyto cykly se skládají s určitých fází, a to: 1. přítok, 2. reakce, 3. usazení, 5. odtok.

Ve fázi přítoku dochází k dodání substrátu do reaktoru, kde je smíchán s biomasou aktivovaného kalu, která byla ponechána v reaktoru po konci předchozího cyklu. Přítoková fáze může být aerována, ale i nemusí. Záleží na charakteristice čištěného substrátu. Délka přítokové fáze závisí na přítoku a pracovním objemu reaktoru. Často je délka této fáze změřena na čtvrtinu času jednoho cyklu (Jaroszynski & Oleszkiewicz 2011).

V reakční fázi dochází k reakcím vedoucím k přeměně substrátu na požadovanou formu. V průběhu reakční fáze nedochází k přítoku ani odtoku, ale pouze k reakci v reaktoru. Odhadovaná doba této fáze je většinou přes 50 % délky jednoho cyklu. Průběh této fáze je převážně kontrolován koncentrací kyslíku. Díky ní se tvoří aerobní, anoxické nebo anaerobní prostředí. Dalším důležitým faktorem u variant se suspendovaným kalem je jeho rovnoměrné rozmístění v reaktoru, čehož se dosahuje nejčastěji dmychadlem.

V usazovací fázi dochází k usazení pevných částic a jejich separaci od kapalných složek. Po usazovací fázi přichází fáze odtoku. V té dochází k odtoku vyčištěného supernatantu. Mechanismus zodpovědný za vypuštění, by neměl nabírat plovoucí materiál neboli částice kalu. Odhadovaný čas pro odtok je mezi 5 až 30 % celkového času cyklu (Jaroszynski & Oleszkiewicz 2010).

Tento systém může a nemusí mít využití s přichycenou biomasou, respektive s použitím určitého nosiče. Je naznačeno, že vnější vrstva biofilmu je obydlena kyslík konzumujícími bakteriemi jako jsou AOB a vnitřní vrstva bude obsahovat anammox bakterie. Při tomto zapojení částečná nitrifikace a anammox probíhají společně. Z výzkumu vyplývá, že SNRR (specific nitrogen removal rate) SNRR je způsob, kterým je vypočtena efektivita funkce reaktoru (Wett et al. 2009).

3.4.3 MBBR

Anglická zkratka (moving bed biofilm reactor) je reaktor využívající přichycení biomasy suspendovaného kalu na nosič. Proces je tedy podobný jako u suspendovaného kalu. Mezi výhody MBBR oproti konvenčnímu reaktoru s aktivovaným kalem, které byly pozorovány při provozu, patří lepší přenos kyslíku, kratší potřebná hydraulická doba zdržení, vyšší realizovatelné zatížení organickými látkami a větší povrchová oblast pro přenos hmoty (Chen et al. 2008).

Hlavní myšlenkou procesu, který běží v MBBR, je kombinace dvou rozdílných kultivací biomasy, a to suspendované a přichycené biomasy. Jako vhodný nosič biomasy jsou využívány malé částice polyethylenu s vysokým specifickým povrchem. V takto navrženém systému je tedy možný růst biomasy přichycené na nosiči, tak jako suspendované kalové vločky. Instalace MBBR je velmi jednoduchá, jediné nároky jsou nádrž vhodné velikosti, aerační systém a vhodný nosič biofilmu. Nosiče mohou být použity jak v anaerobním, anoxickém či aerovaném

prostředí. U procesu s nosičem biofilmu můžeme ještě rozlišovat systémy s pohyblivým a fixním nosičem. Pohyblivé systémy jsou navrženy tak, aby mezi nosiči nastával pohyb směrem vzhůru. Tím dochází ke vzinku třecího efektu (scrubbing), a tím pádem dochází k předcházení ucpání (Germain et al. 2007).

Další výhodou oproti systémům se suspendovaným kalem je, že pokud chceme zvýšit specifický povrch pro růst biomasy, dosáhneme toho přidáním jiného typu nosiče s vyšším specifickým povrchem nebo prostým přidáním většího množství nosičů. U systému s aktivovaným kalem je tento problém nutno řešit přidáním dalšího reaktoru.

Existuje skupina základních tvarů pro nosiče biomasy. Hladké cylindrovité, kvádrovité a krychlovité a sférovité tvary. Dále byly zkoušeny různé materiály pro lepší přilnutí biomasy k nosiči. Mezi tyto materiály patří pórovitá keramika, retikulovaná pěna, polynivinylní alkohol, polyuretan, plastová pěna a polyetylen. Celkový povrch nosiče se počítá jako součet vnitřních a vnějších ploch a označení efektivní povrch nese povrch, na kterém je aktivně přichycena biomasa. Dle studie od Qiqi et al. (2012), jsou MBBR systémy účinnější právě díky vyšší specifické ploše v relativně malých nadržích pro růst biomasy (Wett et al. 2009).

3.4.4 Problematika jednoreaktorových systémů

Hlavním problémem jednoreaktorových systémů je koexistence skupin mikroorganismů. Kompetice mezi organismy v jednoreaktorovém systému je mnohem větší než u dvoureaktorového systému. Anammox a AOB organismy soupeří o N-NH_4^+ jako o akceptor elektronů. Anammox a NOB pak soupeří, pokud jsou přítomny, o N-NO_2^- jakožto akceptor a i donor elektronu. AOB a NOB soupeří o rozpuštěný kyslík jako o preferovaný akceptor elektronů a anammox, AOB a NOB o anorganický uhlík jako o asimilační zdroj uhlíku (Feng et al. 2017, Lotti et al. 2014).

Heterotrofní bakterie jsou denitrifikační bakterie. V práci od Malovany et al. (2015) je popsána prospěšnost koexistence anammox procesu a denitrifikace. Denitrifikace probíhala ve značně nižší míře. Prospěšnost denitrifikace spočívala v metabolizaci dusičnanů na dusitany, které byly poté využity anammox organismy jako akceptory elektronu. V systému tedy musí být přítomen dusičnanový dusík. Ten často vzniká při nedostatečné inhibici NOB.

Při anammox procesu, u kterého je poměr CHSK/ N-NH_4 větší než jedna, dochází k problému a kompetici mezi anammox a denitrifikačními organismy. Tato kompetice nastává kvůli zvýšení koncentrace organického substrátu v reaktoru charakterizovaného hodnotou CHSK. Organicky vázaný uhlík v těchto sloučeninách může být substrátem pro heterotrofní bakterie. Nárůst heterotrofů potenciálně vede k inhibici anammox. Pro ideální průběh anammox procesu by měl být poměr BSK/ $\text{NH}_4\text{-N}$ nižší než 2–3. Vyšší poměry mezi BSK/ $\text{NH}_4\text{-N}$ směřují proces anammox k denitrifikaci a poměr mezi CHSK/ N-NH_4 by měl být menší než jedna (Zhang et al. 2017, Lotti et al. 2014).

Jednoreaktorový systém je dle literatury schopen fungovat i při nízkých teplotách, a to při 15 °C. Převážně díky limitaci aerace, a to na škále 0,15–18 mg/l O_2 . Limitace rozpuštěného kyslíku nebo jeho přesné dávkování je důležitější u jedno reaktorového systému než u dvoureaktorového systému. V jedno reaktorovém systému totiž nitrifikační a anammox organismy koexistují, zatímco ve dvou reaktorovém jsou odděleny v různých reaktorech. Vyšší hladiny rozpuštěného kyslíku jsou toxické pro anammox organismy. Dále mohou vyšší koncentrace kyslíku vytvořit aerobní prostředí, ze kterého profitují spíše denitrifikační bakterie. Myšleno tak, že denitrifikační bakterie jsou stejně vysokými koncentracemi rozpuštěného kyslíku inhibovány v nižší míře než anammox mikroorganismy (Cao et al. 2017).

Rozdíl mezi jedno a dvoureaktorovým systémem může také nastat při zpracování určitého typu odpadní vody. V tomto případě se jedná o anaerobně předčištěné vody, odpadní vody, které projdou procesem anaerobní digesce. U systémů čistících tyto typy odpadních vod

se může objevit problém se snižující se specifickou aktivitou anammox organismů (SAA), ta je vypočtena z poměru hmotnosti dusíku přeměněného za časovou jednotku a koncentrace nerozpuštěných organických látek kvantifikující množství biomasy. Ta je v přímé závislosti s efektivitou odstranění celkového dusíku. Tato SAA může být snížena díky vyšším koncentracím sulfidů vzniklých při anaerobním předčištění s cílem odstranění organických látek. Zatímco u dvoureaktorových systémů se tento problém vyřeší při nitritaci, kdy pravděpodobně dochází k oxidaci nebo stripování sulfidů ve fázi aerace. Pro tento typ odpadní vody je dle literatury výhodnější použít dvoureaktorové zapojení (Liu et al. 2018).

3.4.5 Dvoureaktorové systémy

Dvoureaktorový systém je tedy složen ze dvou reaktorů. Množství typů reaktorů se zvětšuje s časem a příchodem nových technologií a je na zpracovateli výzkumu či projektu pro jaký typ se rozhodne. Velmi často je stále používán SBR, i když je již jedná o starší typ reaktoru. V SBR dochází k PN, způsobů, jak dosáhnout maximální možné kumulace dusitanů je více. Často použitá metoda u SBR je délka aerace. Dále může být použita manipulace s koncentracemi rozpuštěného kyslíku nebo inhibice NOB volným amoniakem (Arrigada et al. 2017).

Ve druhé fázi je odpadní voda s metabolizovaným amoniakálním dusíkem na dusitanovou formu přiváděn do reaktoru pro anammox proces. Zde bývá často použit upflow typ reaktoru neboli reaktor s přítokem do spodu reaktoru, kde posléze vyčištěná voda odtéka přepadem. Provedení a typy reaktorů se mohou lišit, přesto procesy používané ve dvoureaktorovém systému zůstávají stejné (Jin et al. 2019).

Koncentrace dusitanů však může být také zásadním inhibitorem, jelikož dusitanový dusík je v určitých koncentracích toxický pro anammox proces. Inhibiční koncentrace se však mohou lišit jak dle způsobu kultivace kalu, tak dle použité technologie reaktoru (Malovanyy et al. 2015, Raudkivi et al. 2017). Více v kapitole Kultivace kalu.

3.4.6 Problematika dvoureaktorového zapojení

Rozdíl mezi dvoureaktorovým a jednoreaktorem systémem částečně spočívá v efektivitě odstranění celkového dusíku. Z literatury vyplývá, že dvoureaktorové systémy vykazují vyšší efektivitu odstranění celkové dusíku oproti jednoreaktorem systémům. Je nutno však zohlednit fakt, že většina dvoureaktorových systémů funguje pouze v laboratorním měřítku a implementované čistící systémy fungující v reálu jsou převážně jednoreaktorem. Tudíž zde dochází ke střetu potenciálního a praktického využití (Jaroszynski & Oleszkiewicz 2010). Hlavním problémem dvoureaktorového zapojení je zkrátka fakt, že místo jednoho reaktoru jsou dva. Tím tedy roste náročnost pro údržbu (Lotti et al. 2014).

3.5 Kultivace kalu

Kal, který je používán ke kultivaci mikroorganismů se může vyskytovat v podobě suspendovaného či granulovaného kalu a biofilmu. Biofilm může být popsán jako suspendovaný kal přichycený na určitý nošič. Jedním z často diskutovaných témat je kultivace kalu a její vliv na anammox proces, ale také na proces PN. Dvoureaktorový systém nabízí možnost různé kultivace kalu pro PN a anammox, jelikož oba procesy probíhají v oddělených reaktorech. Základním problémem při snaze o provedení funkčního anammox systému je dlouhá doba zdvojení, která je nejčastěji udávána mezi 7 až 20 dny (Chen et al. 2016). Tato

časová hodnota je průměrnou dobou dvojení anammox organismů. Lze však předpokládat, že pokud by dominantním rodem v anammox reaktoru byl *Ca. Brocadia sp. 40* s dobou zdvojení pouze 2,1 dne, celková doba zdvojení a nastartování anammox procesu by byla provedena v kratším časovém úseku (Gao & Tao 2011).

Suspendovaný kal má kratší dobu, kdy dojde k aktivaci kalu (aktivační proces), tím se myslí dosažení požadované aktivity mikroorganismů, má tudíž výhodu oproti granulovanému kalu, jehož aktivaci předchází formace granulí a ta je časově náročnější (Kowalski et al. 2019). Studie od Malovanyy et al. (2015) prezentuje práci, ze které vyplývá větší náchylnost k inhibici PN při snižování teploty než u anammox procesu.

Většina studií je zaměřena na kontrolu teploty převážně v anammox reaktoru nebo v jednoreaktorovém systému, kde PN a anammox probíhají v jednom reaktoru, a tudíž i při stejné teplotě (Carvajal-Arroyo et al. 2014; Lu et al. 2017). Odlišný vliv teploty na PN a anammox však není častým tématem literatury a může představovat velký problém při implementaci dvoureaktorových systémů na ČOV s nižšími teplotami.

Výhodou dvoureaktorového systému je využití různých forem kultivace biomasy pro PN a pro anammox. Je zde totiž popsána rozdílná vlastnost různých forem kultivace biomasy při metabolizaci forem dusíku. Rozdílná kultivace může napomáhat k dosažení požadované aktivity mikroorganismů nebo pouze snižovat inhibiční účinky, které mají pro PN a anammox proces jinou intenzitu (Malovanyy et al. 2015).

Rozdílná schopnost metabolizace byla pozorována v systému s biofilmem a v suspendovaném kalu v MBBR. Jako indikační faktor byl zvolen poměr AOB/NOB. Při PN, jejímž cílem je kumulace dusitanů, je žádoucí co možná nejvyšší poměr AOB/NOB, tak aby NOB představovaly nižší, ideálně žádný podíl. Od začátku do konce pokusu byl vždy naměřen vyšší poměr AOB/NOB u suspendovaného kalu než u biofilmového nosiče.

Faktor, který prokazatelně může snižovat poměr AOB/NOB u biofilmu, vychází také z rozmístění bakteriálních skupin, jelikož NOB mohou obývat vnitřní vrstvy, jsou mechanicky lépe chráněny před vypláchnutím z reaktoru, jelikož jsou chráněny vrstvou AOB bakterií. AOB podléhají větší míře vypláchnutí a koncentrace NOB narůstají oproti AOB (Malovanyy et al. 2015).

V rámci této práce byla také zkoumána aklimatizace biomasy na vyšší koncentrace dusitanů pomocí tzv. spikingu. Spiking spočívá v přidávání vyšších koncentrací určité látky o jisté frekvenci. Dále byl pozorován vliv použité technologie reaktoru. Všechny reaktory používaly jednoreaktorový systém. Pokus vyplýval z porovnání MBBR a SBR a UASB. (Tento reaktor je popsán jako upflow reaktor využívající procesů anaerobní digesce). Porovnání efektivity reaktorů bylo vyhodnoceno na základě schopnosti systémů odstranit dusíkaté znečištění, total nitrogen removal rate (TNRR). Důležité v tomto pokusu bylo i zatížení celkovým dusíkem. MBBR o pracovním objemu 20 l a SBR o pracovním objemu 10 l a UASB s pracovním objemem 2 l. Tab. č. 3 dává do souvislostí různé kultivace biomasy, typy reaktoru a objemové zatížení.

Typ reaktoru	Kultivace biomasy	TNLR (g.N.m ⁻³ .d ⁻¹)	t (°C)	O ₂
MBBR	Biofilmový nosič	240–440	25,8 ± 1,3	<0,2
SBR	Suspendovaný kal	20–50	26 ± 0,5	<3
UASB	Granulovaný kal	400–600	34 ± 1	–

Tab. č. 3 Srovnání PN/anammox systémů.
Zdroj: Malovanyy et al. (2015)

Výsledky tohoto pokusu jsou zobrazeny v tab. č. 4

NO ₂ -N (mg/l)	TNRR–MBBR	TNRR–SBR	TNRR–UASB
20	2,5	0,6	1,05
40	5,03	1,18	1,97
60	3,84	1,78	2,90
80	2,79	2,37	3,83

Tab. č. 4 Výsledky měření TNRR (total nitrogen removal rate).

Zdroj: Malovanyy et al. (2015)

Míra odstranění celkového dusíku odráží celkovou efektivitu systému. Té dosáhl MBBR při Bv 60 mg/l.

Z pokusu vychází najevo, že SBR se suspendovaným kalem, který však nebyl podroben zatěžováním vyšších koncentrací dusitanů, měl nejmenší rozdíl mezi nejvyšší možnou mírou odstranění dusíku, to je moment, kdy je systém nejvíce efektivní, a inhibiční koncentrací, při které je inhibováno 50 % anammox organismů (IK₅₀). To znamená, že operace systému při jeho maximální efektivitě, je značně riziková, jelikož může dojít k inhibici. U MBBR a UASB docházelo k větším rozdílům. Tyto reaktory prošly zatěžkáváním dusitanovým dusíkem a jevíly známky adaptace na vyšší koncentrace dusitanů (Malovanyy et al. 2015).

3.6 Postupy vedoucí k udržitelnosti anammox procesu

3.6.1 Potlačení NOB

Potlačení NOB je spojeno s funkcí jednoreaktorového anammox provedení. Ve dvoureaktorovém systému jde tedy o procesy provedené na reaktoru pro PN. Potlačení NOB je důležitým krokem při PN. Potlačení NOB má přímý vliv na produkci dusitanů potřebných pro anammox proces jako akceptorů elektronu. Pokud NOB nejsou potlačeny, dochází ke kompetici mezi AOB a NOB. S rostoucím počtem NOB v reaktoru na PN dochází k vyšší míře přeměny dusitanů na dusičnany, které jsou pro anammox proces nevhodné (Lotti et al. 2014).

NOB jsou gram negativní, chemolitoautotrofní bakterie. Dva nejběžněji zastoupené rody NOB jsou *Nitrospira* a *Nitrobacter*. Jejich odlišnost spočívá v saturaci kyslíkem, zatímco *Nitrobacter* se vyznačuje nižší saturační hodnotou, *Nitrospira* naopak vyšší. Je možné tedy předpokládat, že při manipulaci s koncentracemi rozpuštěného kyslíku bude docházet ke změně společenstvem v reaktoru (Zhang et al. 2017). NOB mají oproti AOB vyšší kyslíkový saturační bod. Pro jejich potlačení je tedy možné aplikovat koncentrace rozpuštěného kyslíku < 1 mg/l. Nízké koncentrace rozpuštěného kyslíku však mohou také zapříčinit celkové snížení nitrifikační efektivy, hromadění kalu nebo zvýšení produkce oxidu dusného. Proto se pro inhibici NOB používají spíše metody zvýšení teploty, koncentrací volného amoniaku, volné kyseliny dusné nebo zvýšeného pH (Guo et al. 2009).

Další důležitou částí je samotná délka aerace. Ta je nastavena podle efektu zvaného „ammonia valley“, do češtiny přeloženo jako amoniakální údolí. Jev je takto pojmenován, jelikož křivka pH připomíná tvar údolí. Při procesu nitritace dochází k poklesu pH, to je zapříčiněné produkcí hydrogenního iontu. Při procesu nitratace, která následuje po procesu nitritace již nedochází k produkci hydrogenního iontu a díky tomu dochází ke stripování oxidu uhličitého a postupnému nárůstu pH. Změnou tendence pH křivky je tedy možno určit konec nitrifikační fáze. V ten moment je pro PN nezbytné ukončit aeraci (Peng & Zhu 2006).

Způsobů, jak ideálně nastartovat proces nitritace a zároveň omezit proces nitratace, je více. Část autorů vědeckých článků propaguje metodu o stejné době zdržení aktivovaného kalu

v nitrifikačním reaktoru jako době zdržení vstupní vody. Výsledek tohoto procesu je krátká doba zdržení, ve které nitrifikační bakterie nestíhají růst a je tímto docílena jejich inhibice.

Dalším faktorem, který ovlivňuje koncentraci dusitanů, je obsah rozpuštěného kyslíku v odpadní vodě. Jelikož nitrifikační mikroorganismy mají vyšší saturační kyslíkovou konstantu oproti nitrifikačním mikroorganismům, je možné předpokládat, že snížením koncentrace rozpuštěného kyslíku se dá regulovat tvorba dusitanů (Švehla et al. 2015).

Jedna z možností je rozdělení procesu PN a Anammox procesu do separátních reaktorů. Toto technické provedení zaručuje snazší oddělení těchto dvou procesů, avšak představuje větší finanční zátěž a náročnější manipulaci (Feng et al. 2017).

Potlačení NOB při PN bylo široce studováno a mezi zákroky omezující NOB patří kontrola kalové retenční doby, pH, rozpuštěného kyslíku, intenzita aerace a koncentrace volného amoniaku (Arriagada et al. 2017).

Jelikož mají NOB nižší toleranci vůči koncentracím volného amoniaku než AOB, je možné použít strategii pro potlačení NOB bakterií, která se skládá ze tří fází. V první fázi dojde k inhibici NOB pomocí předávkování reaktoru volným amoniakem v první fázi. V druhé fázi dochází k oživení AOB, které jsou koncentracemi volného amoniaku také zasaženy, ne však v takové míře jako NOB. Ve třetí fázi dochází k dosažení chtěné aktivity AOB a současně eliminaci aktivity NOB snížením koncentrace rozpuštěného kyslíku. Tato taktika se však používá u jednoreaktorových systémů, kde je manipulace s koncentracemi rozpuštěného kyslíku složitější než u dvoureaktorového systému (Arrigada et al. 2017). Koncentrace amoniakálního dusíku pro inhibici NOB a AOB se liší. V práci od Arrigada et al. (2017) je uvedeno, že NOB mohou být inhibovány koncentrací volného amoniaku 1 mg/l i méně, zatímco koncentrace AOB je inhibována koncentracemi nad 16 mg/l. Tyto koncentrace se však velmi liší na základě difference celkových systémů s využitím anammox procesu. Například kultivace biomasy, specifická aktivita anammox organismů, objemové zatížení reaktoru, pracovní objem reaktoru a další.

Mezi metody potlačení NOB můžeme zařadit i manipulaci s teplotou v reaktoru, dobu zdržení kalu, pH v reaktoru, volné kyseliny dusné a jejich poměr (Zhang et al. 2019). Kvůli rozdílné náchylnosti k inhibici je v práci od Zhanga et al. (2019) uvedeno, že koncentrace volné kyseliny dusné, která je potřeba ke kompletní inhibici NOB, zároveň neúčinkuje na aktivitu poloviny přítomných AOB (Zhang et al. 2019).

Další a pravděpodobně lepší variantou, jak dosáhnout zvýšení koncentrací volného amoniaku a volné kyseliny dusité než přímé dávkování do reaktoru, je možnost zvednout v reaktoru hladinu pH za neměnné teploty, což nepřímě vede ke zvýšení obou koncentrací (Zhang et al. 2019).

NOB jsou nežádoucí jak v jednoreaktorovém, tak ve dvoureaktorovém systému. Jejich přítomnost snižuje akumulaci dusitanů, jelikož probíhá druhá fáze nitrifikace a přeměna dusitanů na dusičnany.

Doba zdržení kalu by měla být v rozmezí 2–3 dní. Jelikož míra růstu AOB organismů je větší než u NOB. Jednoduše řečeno, NOB jsou za těchto podmínek vyplaveny dříve než se stačí rozmnožit, zatímco AOB tento proces stačí uskutečnit (Gao et al. 2014).

3.6.2 Vliv teploty na PN a anammox proces

Optimální hodnota pH pro anammox proces je velmi diskutované téma. Část autorů uvádí hodnotu 7,2–7,6 (Carvajal-Arroyo et al. 2014, Lu et al. 2017). V dalších publikovaných pracích, například od Jin et al. (2012), nalezneme širší rozmezí, a to 6,5–9,3 a Gao & Tao 2011 udává pH 6,7–8,3. V průměrném vztahu k pH je koncentrace volného amoniaku a volné kyseliny dusité, které jsou ovlivněny jak teplotou, tak hodnotou pH. Amoniakální dusík i volná kyselina dusitá jsou považovány po překročení mezní koncentrace za přímé inhibitory anammox

procesu. Ve studii od Tomaszewskiho et al. (2017) je uvedeno, že nízká teplota čištěné vody může být kompenzována vyšší hodnotou pH. Toto vyjádření je založeno však pouze na dvou experimentech a vliv zvyšování pH při nižších teplotách v anammox procesu nebyl doposud významně zkoumán. Vliv zvýšení pH při snížení teploty dává smysl jako reakce na rostoucí koncentrace volné kyseliny dusné, které jsou rostoucí se snižující se teplotou. Zvýšením pH se dá těmto koncentracím předcházet. V práci od Tomaszewskiho et al. (2017) je zkoumán přímý vliv teploty na specifickou aktivitu anammox organismů v reaktoru se suspendovanou biomasou a dominancí rodu *Candidatus Jettenia* při konstantním pH. Specifická aktivita anammox organismů (SAA) se udává v ($\text{gN.Gvss}^{-1}.\text{d}^{-1}$). V této práci byl zkoumán vliv teploty na SAA. Teplota byla postupně nastavena na 0, 15, 20, 30, 35, 40 °C, při nichž byla měřena SAA. Výsledky ukazují prakticky lineární závislost s nejnižší aktivitou při 10 °C a nejvyšší při 40 °C.

Svoji roli ve vztahu mezi teplotou a specifickou aktivitou může hrát také způsob kultivace biomasy, ať už se jedná o suspendovaný či granulovaný kal nebo biomasu ve formě biofilmu fixovaného na povrchu vhodného nosiče. Z literatury však vychází, že specifická aktivita se při využití jednotlivých variant kultivace biomasy výrazně nemění (Feng et al. 2019). Vliv pH na specifickou anammox aktivitu byl sledován podobným způsobem. Specifická aktivita byla měřena při konstantní teplotě 30 °C. Hodnoty pH byly postupně nastaveny na 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5 a 9. Nejvyšší specifická aktivita byla naměřena v rozmezí 7–7,5 pH. Specifická aktivita v krajních bodech se výrazně lišila, zatímco při pH pod 6 docházelo prakticky k nulové specifické aktivitě, při pH 9 dosahovala aktivita stále nadpoloviční hodnoty než při pH 7–7,5 (Tomaszewski et al. 2017).

Literatura udává, že pro plynulý chod PN/Anammox při nízkých teplotách (15 °C) je nejvhodnější používat granulovaný kal, u něhož se dá lehce kontrolovat potlačení NOB pomocí poměru rozpuštěného kyslíku a amoniakálního dusíku (Liu et al. 2018).

Při použití granulovaného kalu a snížení teploty z 15 na 6 °C došlo k předpokládané změně u SAA, a to z 457 na 101 $\text{mg N g}^{-1} \text{VSS} \cdot \text{d}^{-1}$ v PN reaktoru. Při snížení na teplotu 7 °C došlo k 90% inhibici SAA (Liu et al. 2018). Při snižování teploty dochází tedy dříve k snížení SAA než nitritačních bakterií. V celkovém procesu se to projevuje neschopností odstraňovat amoniakální dusík a dusitany v anammox reaktoru. Tyto koncentrace se poté kumulují, jelikož aktivita AOB nebyla ještě natolik snížena jako SAA a v anammox reaktoru potom dochází k inhibici procesu kvůli nahromaděným koncentracím.

Z literatury vychází, že při snížení teploty pod 12 °C klesne růst AOB pod růst NOB. Dojde k potlačení AOB. Tím pádem dochází k dominci NOB, která vede k přeměně dusitanů na dusičnany. Anammox organismy poté přicházejí o substrát, jelikož dusitany jsou hlavním akceptorem elektronu při anammox procesu (Strous et al. 1998).

3.6.3 Inhibice anammox procesu

Jedním z udávaných problémů provozu anammox procesu je dlouhá doba potřebná ke zdvojení těchto organismů, což ovlivňuje již primární proces nastartování aktivity v reaktoru. Podle dostupných informací se však doba množení liší jak u rodů, tak druhů. Můžeme tedy předpokládat, že pro nejefektivnější start procesu je nejvíce vhodný druh *Ca. Brocadia sp.* 40 s nejnižší dobou zdvojení, viz v kapitole anammox organismy.

Druhým faktorem je zastoupení a poměr uhlíku a dusíku (C/N) v odpadních vodách. Pokud má odpadní voda vysoký poměr C/N, dochází v anammox reaktoru ke kompetici mezi anammox bakteriemi a denitrifikačními bakteriemi. Z literatury vychází, že při vyšších koncentracích jsou anammox bakterie potlačeny a mohou být i úplně inhibovány určitými organickými substráty. Denitrifikační bakterie mají vyšší rychlost růstu a množstvím tedy inhibují anammox bakterie (Vodičková 2018).

Podle uskutečněných experimentů zaměřených na průběh denitrifikace a anammox procesů v reaktorech čistících vodu s obsahem koncentrací organické hmoty, bylo zjištěno, že odpadní vody s poměrem CHSK/N, kdy CHSK vyjadřuje organické znečištění, v rozmezí 1,4 až 4 mají tendenci inhibovat anammox proces nárůstem denitrifikačních bakterií, což snižuje efektivitu odstranění amoniakálního dusíku a zároveň ovlivňuje mikrobiální složení v reaktorech. Můžeme tedy říci, že vody s vyšším poměrem CHSK/N inhibují anammox bakterie dominancí denitrifikačních bakterií (Gonzales et al. 2015).

I když principem anammox procesu je přeměna amoniakálního dusíku s využitím dusitanů jako akceptorem elektronů, právě nadměrná koncentrace dusitanů může inhibovat proces v reaktoru. Nejčastějšími inhibitory pro anammox proces jsou dusitanový dusík, volný amoniak, rozpuštěný kyslík a vysoký poměr CHSK/N nebo koncentrace volné kyseliny dusité.

Inhibiční koncentrace způsobující úhyn 50 % organismů (IK_{50}) se může lišit dle způsobu kultivace biomasy. Biomasa kultivovaná na biofilmových nosičích a granulovaný kal byly popsány jako odolnější a schopnější snášet vyšší hodnoty, naopak suspendovaný kal je v porovnání s ostatními variantami kultivace biomasy nejnáchylnější k inhibici dusitanovým dusíkem. Z literatury však vyplývá, že je možná aklimatizace anammox organismů na koncentrace dusitanů. Jednak postupným zvyšováním koncentrace v odpadní vodě nebo selekcí anammox druhů, které mají větší toleranci vůči koncentracím dusitanů. Například IK_{50} *Candidatus Brocadia anammoxidans* je 7 mmol. *Candidatus Brocadia sinica* méně než 16 mmol a *Candidatus Kuenia stuttgartiensis* v rozmezí 13–25 mmol (Raudkivi et al. 2017).

NO_2^- -N IK_{50} (mg/l)	NO_2^- -N optimum (mg/l)	Teplota (°C)	Typ biomasy
350	120	30	Suspendovaný kal
120	cca 50	20–43	Suspendovaný kal
80	37	35	Suspendovaný kal
400	100	30	Granulovaný kal
>430	100	30	Gelový nosič biofilmu

Tab. č. 5 Porovnání IK_{50} ovlivněných typem kultivace biomasy a teplotou
Zdroj: Raudkivi et al. 2017

Koncentrace amoniakálního dusíku pro inhibici NOB a AOB se liší. V práci od Arrigada et al. (2017) je uvedeno, že NOB mohou být inhibovány koncentrací volného amoniaku 1 mg/l i méně, zatímco AOB jsou inhibovány koncentracemi nad 16 mg/l. Tyto koncentrace se však velmi liší na základě difference celkových systémů aplikovaných pro anammox proces, například kultivace biomasy, specifická aktivita anammox organismů, objemové zatížení reaktoru pracovní objem reaktoru a další.

Akumulace dusitanů, která může nastat u anammox reaktoru, je způsobena buď poklesem SAA, nebo nadprodukcí nitritačních organismů. Problém, který může nastat spíše u jednoreaktorového systému, je nečekaná inhibice AOB. Jako důsledek vzroste koncentrace rozpuštěného kyslíku, jelikož je méně spotřebitelů a v reaktoru se celkově zvyšuje koncentrace kyslíku, která může vést až k inhibici anammox procesu. K tomuto procesu může dojít i u dvoureaktorového zapojení, je to však méně pravděpodobné (Joss et al. 2011).

Dalším a pravděpodobně nejzásadnějším problémem je nízká teplota čištěné odpadní vody, jelikož ideální teplota pro anammox bakterie je stanovena na 37 °C (Gao & Tao 2011). Pozitivní zprávou je, že literatura poukazuje na možnou adaptaci anammox bakterií na nižší teploty (Lotti et al. 2014).

Anammox proces může být inhibován koncentracemi dusitanového i amoniakálního dusíku, je však citlivější na koncentrace dusitanového dusíku a proces je inhibován při nižších koncentracích než při stejných koncentracích amoniakálního dusíku. Podle práce od Kimura et al. (2010) dochází k 50% inhibici SAA v anammox reaktoru s gelovým nosičem biomasy, při koncentracích v rozmezí 100–400 mg/l N-NO_2^- . Koncentrace inhibující anammox proces pro amoniakální dusík je přibližně 1000 mg/l N-NH_4 . Mezi další inhibitory můžeme zařadit přítomnost koncentrací kovů. Ni, Cu, Co, Zn a Mo, jejichž potenciální schopnost inhibovat proces byla testována v anammox reaktoru s granulovaným kalem. Inhibiční hodnoty byly stanoveny na 5, 5, 5, 10 a 0,2 mg/l. Zajímavostí je, že všechny kovy kromě molibdenu způsobily reversibilní změny, pouze molibden způsobil ireversibilní změnu (Zhang et al. 2016).

3.6.4 Kolaps a obnovení anammox procesu

Dle odborné literatury je možno konstatovat, že provedení odstranění amoniakálního dusíku pomocí PN/anammox systému není v dlouhodobé míře jednoduše proveditelný úkol. Prakticky všechny práce odkazují na problémy pramenící z potíží s udržitelností anammox organismů (Raudkovani et al. 2017; Malovanyy et al. 2015; Zhang et al. 2016; Gonzales et al. 2015; Lotti et al. 2014). Po kolapsu se nejčastěji používá metoda snížení koncentrací dusíkatého znečištění. Pokud nejsou anammox organismy nevratně inhibovány, dojde k samovolné reaktivaci SAA pod nižšími hodnotami potenciálních inhibitorů, to jsou převážně amoniakální dusík a dusitany, jejich koncentrace a prostředí (pH a teplota) však ovlivňují koncentrace volného amoniaku a volné kyseliny dusité. Tyto koncentrace jsou považovány za agresivnější inhibitory. Obě látky dokáží snáze proniknout skrz buněčné membrány anammox buněk nežli formy dusíku (Fernandez et al. 2012). Koncentrace volného amoniaku rostou se zvyšující se hodnotou pH a koncentrace volné kyseliny dusité naopak s klesajícím pH (Zhang et al. 2016).

Zdá se tedy, že pro hladký průběh anammox procesu je nejdůležitější zachování ideálních podmínek a čas pro obnovení anammox aktivity. Pereira et al. (2017) popisuje jejich zbarvení charakterizované mírně oranžovou nebo červenou barvou. To je vlastnost cytochromu C. Naoranžovělé zbarvení a samovolná formace granulí o průměru 0,5–3,5 mm jsou známkou ideálního průběhu anammox procesu (Zhang et al. 2016, Pereira et al. 2017).

Účinky různé kultivace biomasy jsou dokumentovány v různých souvislostech. Pro překonání inhibice způsobené tepelnými šoky, převážně myšleno snižující se teplotou, byla zvolena jako nejlepší možnost zamezení inhibice kultivace ve formě biofilmu. V literatuře je popsána jeho vyšší rezistence na teplotní šoky a zároveň rychlejší schopnost obnovení SAA po teplotní inhibici.

Pro úspěšnou implementaci anammox procesu je nutné nejdříve biomasu aklimatizovat a podpořit růst anammox organismů. Toho je dosaženo v začátcích implementace kontrolou a regulací vstupních koncentrací dusíkatého substrátu. Převážně poté N-NO_2^- a N-amon. Přesná dávka těchto koncentrací je však velmi složitě určitelná, a kvůli rozdílnosti anammox systému (jednoreaktorové, dvoureaktorové, různé typy reaktorů, druhy kultivace biomasy, pracovní objemy, retenční doby zdržení kalu, typy odpadní vody atd.) Koncentrace N-amon 50 mg/l a 65 mg/l pro N-NO_2^- jsou v práci od Zhao et al. (2014) jsou uváděny jako nízké koncentrace pro anammox proces a vhodné pro nastartování anammox procesu. Na začátku procesu je tedy pozorována nízká SAA. Bv vhodné pro vhodné nastartování anammox procesu je v této práci stanoveno na 0,23 kg N celkového dusíku/(m^3 .d). Ve fázi nevyšší SAA pak Bv celkového dusíkatého znečištění dosahovalo 10,62 kg N/(m^3 .d). Problémem, který nastává často u anammox procesu, není do takové míry samostatný kolaps jako nutnost rychlých zákroků, které by měly následovat. V momentě, kdy dojde z určitého důvodu ke snížení přeměny forem dusíku, převážně N-amon a N-NO_2^- , je nutné omezit nebo kompletně zastavit přítok do reaktoru. Pokud nedochází k metabolizaci N znečištění, dochází k jejich kumulaci v reaktoru a pokud není jejich koncentrace v přítoku nebo samotný přítok redukován, tato kumulace je

radikálně narychlena. Doba a koncentrace inhibitorů hrají také zásadní roli v návaznosti na pokusy znovuoobnovení SAA v reaktoru po inhibici (Carvajal-Arroyo et al. 2013).

Určité vychýlení od normálu jako je například změna teploty nebo vstupní koncentrace N znečištění jsou poté označovány jako počáteční důvod kolísavosti efektivity odstranění N forem znečištění. Rozdíl je také pozorován v době expozice inhibitorů v reaktoru neboli délce inhibice. Při krátké době inhibice, která je pozorována v rámci hodin, je návratnost SAA dosažena snáze a rychleji pomocí manipulace se vstupními koncentracemi N znečištění. Ihned po detekci inhibice je často používána metoda vyplavení nechtěných N koncentrací z reaktoru pomocí vodovodní vody. Po výplachu inhibičních koncentrací je poté Bv nastaveno na nižší hodnoty. Často jsou využívány stejné hodnoty jako v začátcích zvyšování SAA (Lackner et al. 2014).

Při delší době inhibice dochází k hydrolýze neboli úhynu mikroorganismů. Jejich aktivita tudíž není pouze omezena jako u krátkodobé inhibice, ale mikroorganismy zanikají. To způsobuje delší dobu obnovení anammox procesu, jelikož musí dojít ke vzniku nových organismů, a jak již bylo zmíněno, doba dvojení anammox mikroorganismů je problémovým prvkem v procesu. Nicméně proces může být označen za analogický k obnovení aktivity anammox procesu po krátkodobé inhibici s tím rozdílem, že je náročnější na čas.

Bioindikátorem pozitivní aktivity může být také označeno zbarvení anammox mikroorganismů, které nabývá oranžové barvy. Při inhibičním procesu je dokumentován přechod mikroorganismů na barvu černou (Zhao et al. 2014). V pokusu od Zhao et al. (2014), kdy byla inhibiční doba 72 hodin a koncentrace N-amon 500 mg/l a N-NO₂⁻ byla 650 mg/l. Reaktivace anammox procesu byla docílena až po 101 dnech. Metoda, jež je popsána v této práci jako zásadní, je sloučení funkcí dvou kultivací biomasy. Je zde prezentována myšlenka, že dlouhodobou inhibici překonaly zejména mikroorganismy v biofilmu, zatímco mikroorganismy v granulovaném kalu podlehl větší míře hydrolýzy. Postupné dvojení a nárůst anammox organismů se poté šířil převážně z mikroorganismů v biofilmu. Fakt, který je nutný zdůraznit, je ten, že v tomto případě docházelo k aktivnímu míchání mezi biofilmem a granulovaným kalem. Tento proces je údajně esenciálním pro reaktivaci SAA. Část biomasy přechází z biofilmu do granulovaného kalu a tím pomáhá šířit neinhibované anammox mikroorganismy. Tohoto efektu je dosaženo dmychadlem o správném nastavení rotace, nejenže promíchává biomasu a udržuje tak rovnoměrné rozptýlení, dále také vytváří rotaci vody v reaktoru, která poté částečně odtrhuje biomasu z biofilmu a začleňuje ji do jiné kultivační formy. Tato vlastnost je možná u trvale přichyceného biofilmu.

V práci od Niu et al. (2016) bylo dosaženo reaktivace anammox procesu manipulací s hodnotou pH. Práce poukazovala převážně na inhibiční rozdíly mezi volným amoniakem a volnou kyselinou dusitou. Konkrétně podtržena silnější inhibiční vlastnost pro anammox proces volnou kyselinou dusitou. V této práci je poukázáno na fakt, že překročení horní i dolní hranice pH má svá rizika. Při překročení hranice hodnoty pH 9 se zvyšuje riziko inhibice volným amoniakem a při překročení hranice 7,1 inhibice volnou kyselinou dusitou. Přesto jsou však doporučeny hodnoty pH blíže k hodnotě 9 nežli k hodnotě 7,1 a to ve vztahu k inhibiční síle volné kyseliny dusité. V této práci byla stanovena hodnota pH mezi 7,8 až 8 jako nejlepší varianta pro SAA a koncentrace volné kyseliny dusité a volného amoniaku. Na tyto koncentrace mají vliv kromě pH také teplota odpadní vody. Koncentrace volné kyseliny dusité rostou se snižující se teplotou a s pH nižším než 7. Při pH v rozmezí 4 až 7 dochází k mírnému růstu a při pH nižším než 4 dochází k exponenciálnímu růstu. V této práci byla měřena koncentrace volné kyseliny dusité při 35 °C a 20 °C a pH 7. Při 35 °C byla koncentrace 0,07 mg/100 mg N-NO₂⁻. Při teplotě 20 °C byla hodnota koncentrace 0,11 mg/100 mg N-NO₂⁻. U volného amoniaku však nastává obrácená situace a při teplotě 35 °C byla koncentrace 0,05 mg/100 mg N-NH₄⁺ a při teplotě 20 °C byla koncentrace 0,02 mg/100 mg N-NH₄⁺. Překonání snížení SAA bylo tedy docíleno pouze upravením pH na 7,8 až 8 v reaktoru. pH bylo měněno ve vstupním

substrátu. V rámci této práce je také popsána situace kdy inhibice volnou kyselinou dusitou snižuje přeměnu N-amona následně dochází ke kumulaci N-amon

4 Metodika

4.1 Funkce PN a anammox reaktorů

V tomto experimentu byla zkoumána odpadní voda ve dvoureaktorovém systému složeném z SBR a CSTR. Zpracovávaná odpadní voda vznikala smícháním skládkového výluhu a kalové vody po anaerobním zpracování. Skládkový výluh pochází ze skládky ve Zdechovicích v Pardubickém kraji. Kalová voda pochází z ČOV v obci Rybitví taktéž z Pardubického kraje. Skládkový výluh i kalová voda se již na ČOV Pardubice čistí a to konvenčním způsobem nitrifikace a denitrifikace. Nyní je zkoumána možnost aplikace PN a anammox procesu. Čištěná odpadní voda vznikala v poměru 1:3 skládkového výluhu ku kalové vodě.

Do reaktoru, ve kterém probíhal anammox proces, byl přidáván chlorid amonný (NH_4Cl) pro dodržení poměru mezi NH_4^+ ku NO_2^- vhodného pro anammox proces. Ten je pro průběh anammox procesu esenciální a byl stanoven na 1,32. V SBR probíhal proces zkrácené nitrifikace s cílem akumulace vysokého množství dusitanového dusíku jako akceptoru elektronů pro anammox proces v CSTR reaktoru.

4.1.1 Zkrácená nitrifikace

Probíhala v SBR systému, který dostal pracovní název M7. M7 systém byl složen ze zásobního kanystru pro vstupní vodu, soustavy čerpadel zodpovědných za přesun odpadní vody, reaktoru s pracovním objemem 1,5 l s akvaristickým motorkem pro zprostředkování aerace a kanystru pro sběr odtoku z M7 reaktoru. Kontrolní metodou pro operaci SBR byla zvolena délka aerace a poměr volného amoniaku ku volné kyselině dusité. Tento poměr byl zodpovědný za inhibici NOB bakterií. Délka aerace byla řízena časovými spínači.

Za dvacet čtyři hodin proběhly čtyři cykly a odpadní voda byla odváděna čerpadly PCD 31 a aerační proces byl zprostředkován akvaristickým motorkem. Střídání fází cyklů bylo nastaveno následovně. Konkrétněji u prvního cyklu, který začínal odtokem vody po nitrificaci v 8:55. Tento proces trval do 9:05. Přítok odpadní vody začal v 9:10 a skončil v 9:20. Aerace poté začala v 9:25 a končila ve 14:35. Druhý cyklus začínal poté ve 14:55 odtokem nitrifikované odpadní vody. Obr. č. 3 a 4 slouží pro lepší představu realizace M7 systému.



Obr. č. 3 Zapojení reaktoru M7
přítoku a odtoku.



Obr. č. 4 Čerpadla zodpovědná za střídání fází

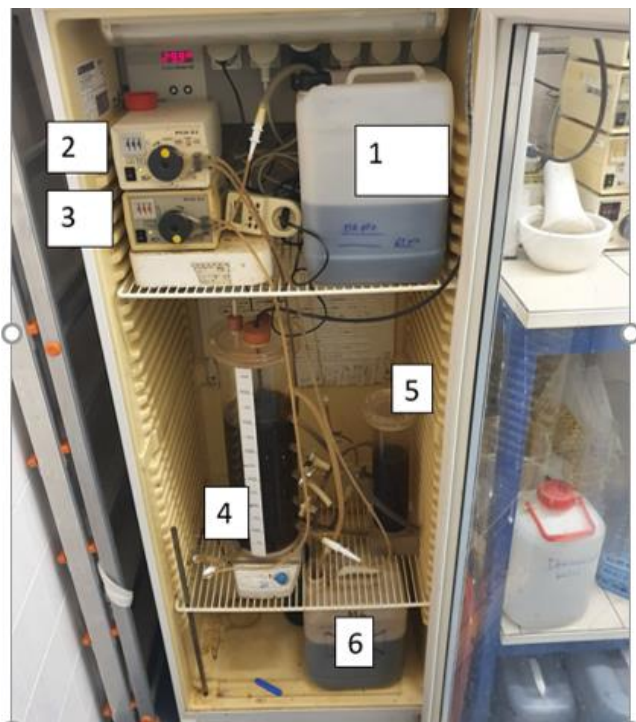
Horní čerpadlo bylo zodpovědné za přítok substátu do reaktoru. Typ hadiček byl použit CV4 a průtok činil 25 ml/min. Fáze přítoku trvala 10 minut a množství přidané vody bylo tedy 250 ml. Na fotce je nastaven výkon čerpadla na 50 %, fotka však není z období měření této práce.

Spodní čerpadlo bylo odpovědné za odtok nitritované vody do sběrníku. Stejně jako u horního čerpadla byl průtok 25 ml/min a doba odtoku 10 min. Odteklo tedy stejné množství vody, jako přiteklo. Jako sběrník byl použit plastový kanystr o objemu 5 l, ve kterém byl substrát uložen pro pozdější vstup do anammox reaktoru.

4.1.2 Anammox fáze

Anammox systém dostal pracovní název AN-1 a jeho technické provedení je zobrazeno obr. č. 5 a popsáno níže. Před vstupem do anammox reaktoru byla vstupní voda upravena. Úprava byla provedena vedoucím práce a spočívala v přidávku koncentrací NH_4Cl pro navýšení poměru mezi amoniakálním a dusitanovým dusíkem. Koncentrace NH_4Cl potřebné pro úpravu ideálního poměru byly vždy vypočítány v reakci na naměřené koncentrace na odtoku z M7 systému.

pH se upravovalo ve vstupu a převážně za účelem ovlivnění pH v samotném anammox reaktoru. V AN-1 systému poté docházelo například ke změnám průtoku, hodnot rozpuštěného kyslíku a teploty. Veškeré procesy s cílem ovlivnit funkci anammox reaktoru jsou zaznamenány s návazností na den pokusu v tab. č. 6, 7, 8 a 9



Obr. č. 5 AN-1 systém umístěn v boxu pro kontrolu teploty.

Celkové zapojení AN-1 systému bylo provedeno složitěji než M7 systém. Proto je detailněji popsán. Systém byl uložen v boxu pro kontrolu teploty. Jednotlivé body a jejich funkce je popsána níže.

1) Zásobník pro upravený substrát, který je do anammox reaktoru dopraven pomocí čerpadla. Viz bod 3. Vstupní substrát byl upraven pomocí NH_4Cl pro dosažení hmotnostního poměru mezi NH_4^+ a NO_2^- . Hmotnost přidaného NH_4Cl se lišila, a to podle hodnot odpadní vody po procesu nitrifkace.

2) Čerpadlo s maximálním výkonem 25 ml/min, jehož výkon byl však značně snížen a měněn podle aktuální potřeby. Toto čerpadlo bylo zodpovědné za manipulaci s vratným kalem. Ten je sedimentován v provizorní sedimentační nádrži, viz bod 4. Odtud je odtážen a dávkován zpět do reaktoru.

3) Čerpadlo odpovědné za nasávání a dávkování vstupního substrátu. Substrát byl dávkován do spodní části reaktoru.

4) Reaktor o pracovním objemu 5 l. Anammox organismy jsou kultivovány v suspendovaném kalu, jehož rovnoměrné rozmístění bylo dosaženo elektronickým magnetickým míchadlem.

5) Dosazovací nádrž, která plnila funkci stejnou jako dosazovací nádrže na ČOV. Sem odtékala voda z reaktoru a docházelo k finální sedimentaci kalu předtím, než gravitačním spádem přešla do sběrníku pro čištěnou vodu.

6) Plastový zásobník pro odtok vstupní vody z reaktoru.

4.1.3 Aplikované procesy pro obnovu aktivity AN-1

V průběhu práce s anammox reaktorem byly za účelem obnovy anammox procesu aplikovány tyto úkony: zvyšování teploty, snižování a zvyšování průtoku, změna objemového zatížení a úprava pH pomocí NaOH.

4.2 Analytické metody

4.2.1 Stanovení teploty

Bylo provedeno sondou oximetru WTW Oxi 340i. U AN-1 reaktoru byla teplota měřena také rtuťovým teploměrem.

4.2.2 Stanovení hodnoty pH

Kontrola pH byla zajištěna pH metrem WTW 340 se sondou SenTix 21.

4.2.3 Stanovení rozpuštěného kyslíku

Koncentrace rozpuštěného kyslíku byla měřena oximetrem WTW Oxi 340i s oxi sondou CellOx325.

4.2.4 Stanovení chemicky oxidovatelného znečištění dichromanem draselným (semimikrometoda)

Tato metoda pracuje na principu oxidace organických látek v odpadní vodě pomocí dichromanu draselného v silně kyselém prostředí. Oxidace organických látek je katalyzována ionty Ag^+ při nadbytku dichromanu draselného. Pro zabránění vzniku pozitivní chyby vzniklé oxidací chloridu se přidává síran rtuťnatý. Při oxidaci se dichromanové ionty redukují na chromité. Nezredukované množství dichromanu se poté měří spektrofotometricky.

Do zkumavky převedeme 2,5 ml vzorku. Pístovým dávkovačem přidáme 3,5 ml katalyzačního roztoku (1 l H_2SO_4 a 10 g $\pm 0,1$ Ag_2SO_4) a 1,5 ml oxidačního roztoku (167 ml H_2SO_4 s 10,2148 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$). Po důkladném promíchání byla zkumavka vložena do mineralizačního boxu a ponechána při teplotě $150\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ dvě hodiny. Po uplynutí dvou hodin byla zkumavka ochlazená na pokojovou teplotu a měřena na spektrofotometru (Hach DR 3900) při vlnové délce 600 nm (Horáková et al. 2003).

4.2.5 Stanovení amoniakálního dusíku

Toto stanovení je založeno na principu reakce amoniaku, chlornanu asalicylanu za vzniku sloučeniny indofenolového typu. Tato látka je poté v alkalickém prostředí disociována na indofenolové barvivo modré barvy. Reakce je katalyzována nitroprusidem sodným žluté barvy. Výsledný roztok je tedy barvy zelené.

Bylo odpipetováno 40 ml vzorku s příslušným naředěním do 50 ml baňky. Poté byly přidány 4 ml vybarvovacího činidla. Baňka byla poté zazátkována a důkladně promíchána. Poté byly přidány 4 ml roztoku dichlorisokyanuratanu a opět důkladně promíchána. Směs byla poté doplněna destilovanou vodou na objem 50 ml. Po promíchání se směs nechala stát minimálně 60 minut. Spektrofotometr byl nulován na hodnotu destilované vody, vzorek byl měřen ve vlnové délce 655 nm. Výsledek byl přenásoben ředící hodnoutou a zapsán v mg/l (Horáková et al. 2003).

4.2.6 Stanovení dusitanového dusíku

Amid kyseliny sulfanilové je diazotován v okyseleném prostředí na diazoniovou sůl. Vzniklá diazoniová sůl je poté kopulována s N-(1-naftyl)-1,2-ethyldiaminodihydrochloridem na červené azobarvivo. Koncentrace dusitanů ve vzorku je přímo úměrná intenzitě barvy vzniklého roztoku.

Do 50 ml baňky bylo odpipetováno 40 ml vzorku s příslušným ředěním. Byl přidán 1 ml vybarvovacího činidla a baňka byla zazátkována a důkladně promíchána. Baňka byla poté doplněna destilovanou vodou na objem 50 ml a nechala se stát minimálně 20 minut. Vzorek byl potom převeden do kyvety vhodné optické dráhy. Spektrofotometr byl nulován pomocí destilované vody a vzorek byl měřen při vlnové délce 540 nm (Horáková et al. 2003).

4.2.7 Stanovení dusičnanového dusíku

Dusičnany přítomné ve zkoumaném vzorku reagují s 2,6 dimethylfenolem v prostředí koncentrované kyseliny sírové a koncentrované kyseliny fosforečné za vzniku 4-nitro-2,6-dimethylfenolu. Intenzita barvy vzniklého roztoku je přímo úměrná koncentraci dusičnanů ve zkoumaném vzorku.

Do fotometrické zkumavky bylo odpipetováno 500 μ l vzorku. Ten smícháme s 350 μ l kyselin amidsírové, zkumavku uzavřeme a důkladně promícháme. Poté přidáme 3,5 ml směsi kyselin (kyselina sírová a fosforečná), opět uzavřeme a promícháme. Dále přidáno 0,5 ml 2,6 dimethylfenolu, zkumavka byla uzavřena a promíchána. Od posledního promíchání byla měřena přesně doba deseti minut, po které byl vzorek měřen spektrofotometricky absorbance s nulováním na destilovanou vodu při vlnové délce $\lambda = 340$ nm (Horáková et al. 2003)

4.2.8 Stanovení veškerých, rozpuštěných a nerozpuštěných látek

K těmto stanovením byly použity gravimetrické uzanční skupinová stanovení. Vzorky se stanovovaly na centrifugovaném a homogenizovaných vzorcích. Výsledky byly stanoveny v sušárně (BMT ECOCELL 55) při teplotě 105 °C, pro stanovení odparku a sušiny nebo v peci (ELSKLO) při teplotě 550 °C, pro stanovení ztráty žháním (Horáková et al. 2003).

4.2.9 Gravimetrické stanovení rozpuštěných látek (RL)

Postup pro stanovení rozpuštěných látek se nijak nelišil od stanovení VL. S tím rozdílem, že vzorek byl před postupem centrifugován (Horáková et al. 2003) Vztahy zůstaly stejné, tedy:

$$\rho(\text{VL105})=1000.(m_2-m_1)/V_0$$

$$\rho(\text{VL550})=1000.(m_3-m_1)/V_0$$

$$\rho(\text{ŽŽ})=1000.(m_2-m_3)/V_0$$

Kdy $\rho(\text{VL105})$ je hmotnostní koncentrace RL 105 v mg/l.
 $\rho(\text{VL550})$ je hmotnostní koncentrace RL 550 v mg/l.
 $\rho(\text{ZŽ})$ je hmotnostní koncentrace ztráty žiháním RL v mg/l.
 V_0 je objem vzorku použitý pro stanovení v ml.

4.2.10 Gravimetrické stanovení nerozpuštěných látek (NL)

Stanovení NL odpovídá vztahu: $\rho(\text{NL}) = \rho(\text{VL}) - \rho(\text{RL})$.

Pro výpočet ztráty žiháním při 550 °C se m_2 vložila do pece po dobu 1 hodiny. Poté byla vyjmuta a ochlazena v exsikátoru (Horáková et al. 2003), následně byla zaznamenána její hmotnost m_3 na analytických váhách a ztráta žiháním dopočtena podle vztahu:

$$\text{ZŽ} = 1000 \cdot (m_2 - m_3) / V_0$$

4.3 Výpočty

4.3.1 Efektivita odstranění N-amon, N-NO₂⁻, N-NO₃⁻ a N-anorg

$$E = (\rho_1 - \rho_2) / \rho_1 \cdot 100 \% [\%]$$

E je samotná efektivita odstranění N-amon v %.

ρ_1 je koncentrace formy dusíkatého znečištění na vstupu [mg/l].

ρ_2 je koncentrace formy dusíkatého znečištění na výstupu [mg/l].

Vzorec pro odstranění celkového dusíku je stejný s tímto rozdílem:

ρ_1 je součet všech forem dusíkatého znečištění na vstupu [mg/l].

ρ_2 je součet všech forem dusíkatého znečištění na výstupu [mg/l].

4.3.2 Objemové zatížení

$$B_v = Q_1 \cdot \rho_1 / V [\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})]$$

B_v je samotné objemové zatížení.

Q_1 je průtok odpadní vody na přítoku do odpadní nádrže [m³/d].

ρ_1 je koncentrace odpadních látek v daném ukazateli na přítoku do reaktoru [mg/l].

V je objem reaktoru [m³].

4.3.3 Procentuální vyjádření přeměny N-amon na NO₂⁻

$$\rho \text{ N-amon}_{(\text{vstup})} / \rho \text{ N-NO}_2^{-}(\text{výstup}) \cdot 100 [\%]$$

4.3.4 Procentuální přeměna N-amon a N-NO₂⁻ na N-NO₃⁻

$$\text{N-NO}_3^- = (\rho_3 - \rho_4) / (\rho_1 + \rho_2) * 100 [\%]$$

ρ_1 Koncentrace N-amon na vstupu

ρ_2 Koncentrace N-NO₂⁻ na vstupu

ρ_3 Koncentrace N-NO₃⁻ na výstupu

ρ_4 Koncentrace N-NO₃⁻ na výstupu

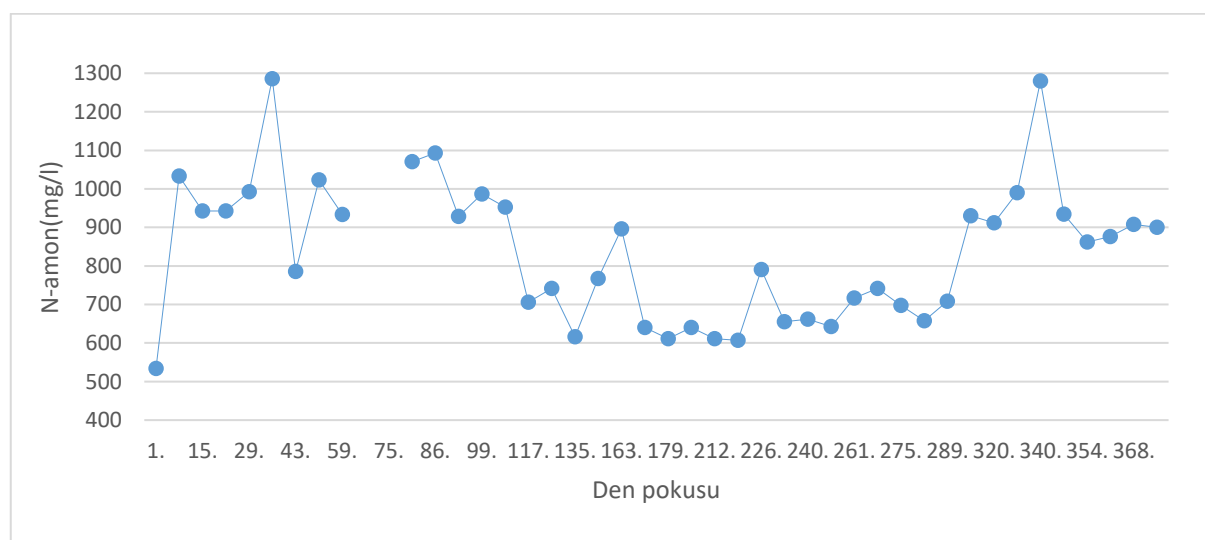
5 Výsledky

5.1 M7 systém

5.1.1 Vlastnosti vstupní vody do systému M7

Vstupní voda vznikala smíšením v poměru 1:3 (skládkový výluh: kalová voda). Takto vzniklá odpadní voda byla zvolena jako zdroj N-amon pro následnou metabolizaci na N-NO_2^- . Obě složky použité směsi jsou charakterizovány vysokými koncentracemi N-amon. U skládkového výluhu má hlavní vliv na koncentrace N-amon stáří skládky a obsah organických látek ve skládce (Kulikowska & Klimiuk 2008). U kalové vody jsou koncentrace N-amon ovlivněny koncentracemi N-amon na ČOV nebo úpravou kalu před jeho odvodněním (Han et al. 2020). Vstupní voda s vysokými koncentracemi N-amon disponuje vyšší potenciální přeměnou na N-NO_2^- . V grafu č. 1 jsou znázorněny vstupní koncentrace N-amon za celou dobu pokusu.

5.1.2 Koncentrace N-amon ve vstupní vodě M7 systému



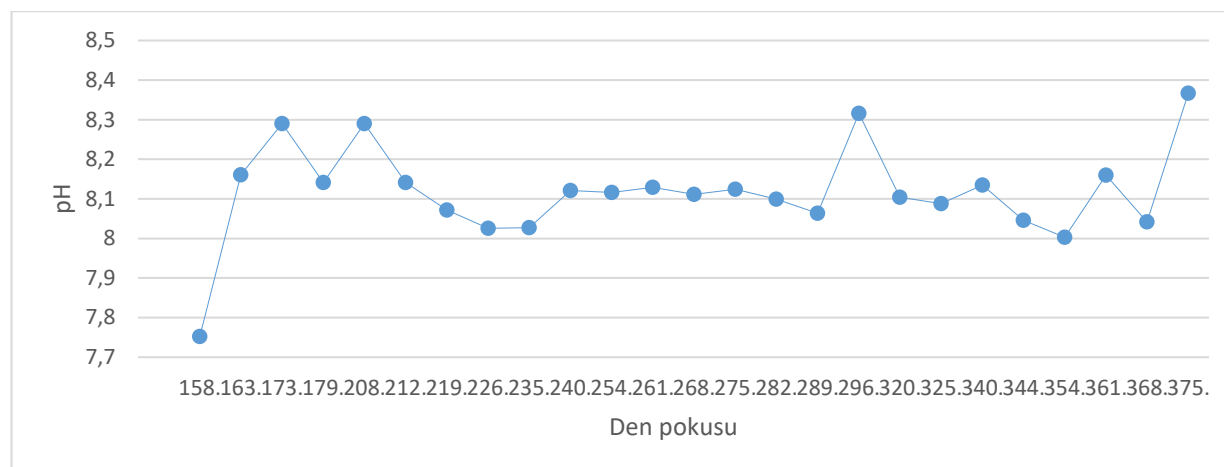
Graf č. 1 Koncentrace N-amon na vstupu do M7 reaktoru

U vstupní vody byla z N forem měřena pouze jedna hodnota, a to koncentrace N-amon. Rozptyl koncentrací v průběhu pokusu je značně široký. Nejnižší hodnota byla naměřena na začátku pokusu a to 534 mg/l. Zatímco nejvyšší hodnota byla naměřena 36. den pokusu a to 1290 mg/l podobná hodnota byla dosažena také 340. den pokusu a to 1280 mg/l.

5.1.3 Hodnota pH vstupní vody v M7 systému

Hodnota pH byla měřena jako jeden z hlavních kontrolních faktorů. pH bylo na vstupu měřeno za účelem kontroly pH v reaktoru. Pokud by docházelo ke změně pH, tato změna by ovlivnila pH v reaktoru. Hodnota pH v reaktoru v případě M7 nebyla upravována a ke změnám

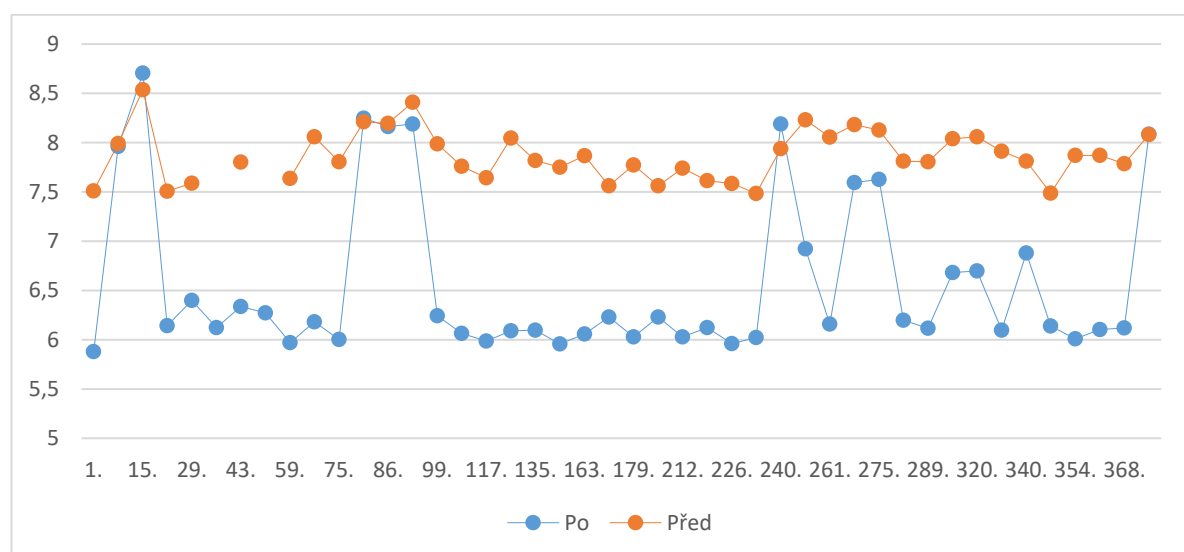
pH v průběhu pokusu docházelo díky rozdílným hodnotám pH ve skládkovém výluhu nebo v kalové vodě. Pokud by pH vstupní vody začalo výrazně ovlivňovat pH v reaktoru, bylo by nutné pH na vstupu upravovat. Tímto způsobem byla provedena regulace pH i v práci od (Niu et al. 2016). Graf č. 2 zobrazuje pH vstupní vody do M7 systému za dobu pokusu.



Graf č. 2 pH odpadní vody před vstupem do M7 reaktoru.

Měření pH na vstupu do reaktoru započalo až 158. den pokusu. Na počátku byla naměřena nejnižší hodnota za celou dobu trvání pokusu a to 7,75. Poté však pH vzrostlo a již nekleslo pod hodnotu 8 a zároveň nepřekročilo hodnotu 8,4. Nejčastěji naměřené hodnoty byly v rozmezí hodnot pH od 8,03 do 8,16.

Pro vyhodnocení procesu PN je však důležitější sledovat vývoj pH přímo v M7 reaktoru. pH bylo měřeno ve dvou bodech. Na začátku cyklu, kdy do reaktoru vstupovala nemetabolizovaná voda a na konci cyklu před odtokem, kdy z reaktoru byla odčerpána metabolizovaná voda. Dle rovnice nitritace by na konci odpadní voda měla mít nižší pH, a to díky produkci vodíkového iontu. Zároveň bylo taky nutné sledovat rozmezí pH v rámci zamezení inhibičních vlivů. Graf č. 3 zobrazuje pH před a na konci aeračního cyklu (Gue et al. 2009)



Graf č. 3 pH v M7 reaktoru před a po aeračním cyklu

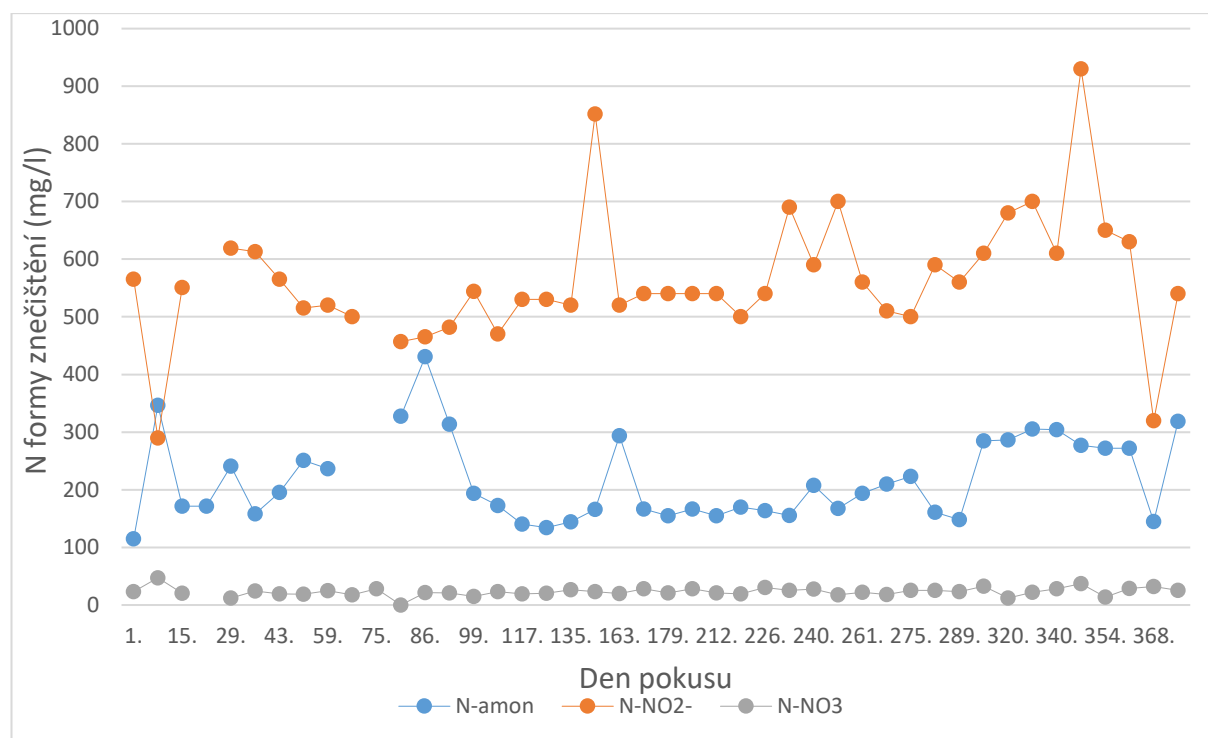
V grafu č. 3 můžeme vidět, že pH vstupní vody na vstupu koreluje s hodnotami pH naměřených v zásobníku vstupní vody pro M7. pH je v rozmezí od 7,5 do 8,5. To poukazuje na absenci mikrobiálních skupin schopných měnit hodnotu pH při skladování vstupní vody. pH měřené na konci cyklu je nižší. Průměrná hodnota pH před začátkem cyklu byla 7,9 a průměrná hodnota po cyklu byla 6,6. Snížená hodnota pH je vysvětlena produkcí vodíkového iontu při nitritační fázi. Pokles pH je tedy důležitým ukazatelem probíhající nitritační fáze.

5.2 Vyhodnocení funkce M7

Úkolem M7 systému byla částečná nitrifikace s cílem kumulace N-NO_2^- a určitým zbytkem N-amon pro následnou metabolizaci anammox mikroorganismy v AN-1 reaktoru na plynný dusík. Kontrolní strategie pro tyto přeměny byl poměr koncentrací volného amoniaku a volné kyseliny dusité jako inhibiční faktor pro NOB. Vedlejší strategií byla délka aerace, ta by dle literatury měla být dostačující metodou pro kontrolu PN (Kouba & Bartáček 20019; Guo et al. 2009; Peng & Zhu 2006). Účinnost M7 systému je v této práci vyhodnocena na základě naměřených koncentrací, a to převážně N-amon a N-NO_2^- , procentuální přeměny amoniakálního dusíku na dusitanový a produkce N-NO_3^- , která by v ideálním případě měla být nulová.

5.2.1 Koncentrace jednotlivých forem dusíku v odtoku z reaktoru M7

Výstupní koncentrace jednotlivých forem dusíku v M7 reaktoru byly měřeny za účelem vyhodnocení procentuální přeměny N-amon na N-NO_2^- a celkové funkce M7 reaktoru. Kontrolní strategií pro PN byl poměr volného amoniaku a volné kyseliny dusité a doba aerace. Nitrifikace byla tedy zakončena na nitritačním stupni a k nitritační fázi nemělo docházet tento fakt je uveden v práci od Peng & Zhu (2006). Graf č. 4 zobrazuje koncentrace jednotlivých forem dusíku v průběhu pokusu na odtoku ze systému M7.



Graf č. 4 Koncentrace N znečištění na odtoku z M7 reaktoru.

Koncentrace forem dusíku naměřená v odtoku z reaktoru byla nejstálější pro N-NO₃⁻. Naměřené koncentrace dosahovaly nejčastěji hodnot v rámci desítek mg/l. Nejnížší naměřená hodnota byla 0 mg/l a nejvyšší hodnota byla 47,2 mg/l.

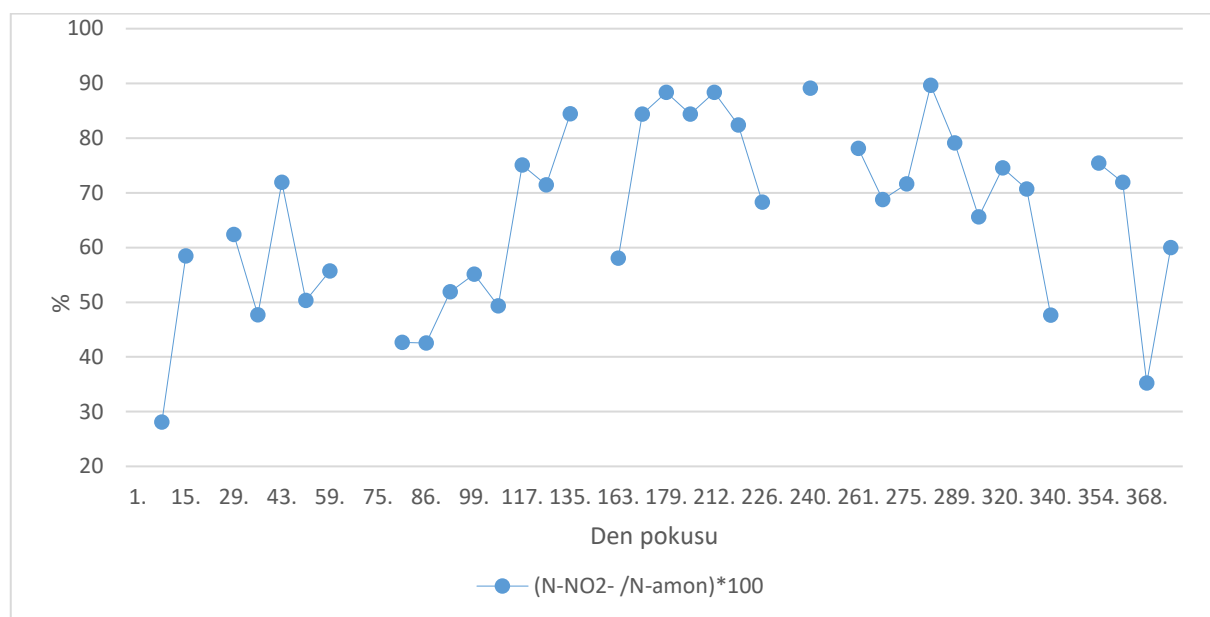
Křivka znázorňující koncentrace N-amon měla od počátku pokusu rostoucí charakter do 86. dne pokusu. 8. den hodnota výrazně narostla a překročila hranici 350 mg/l a poté opět klesla na 172 mg/l. Koncentrace poté rostly bez výraznější změny do 86. dne na hodnotu koncentrace 430 mg/l. Po tomto dni došlo k poklesu hodnot, tento pokles byl zastaven 129. den na hodnotě 129 mg/l. Poté hodnoty koncentrací s výjimkou 3 úseků plynule rostly na hodnotu 319 mg/l.

Hodnoty koncentrací N-NO₂⁻ byly nejčastěji zaznamenány v rozmezí 482 mg/l až 619 mg/l, klesající tendence křivky byla zaznamenána od 29. dne pokusu z hodnoty 619 mg/l na hodnotu 457 mg/l 81. dne pokusu. Poté byla křivka hodnot koncentrací stabilní se třemi jednorázovými nárůsty. 158. den pokusu narostla hodnota koncentrace na 852 mg/l a poté ihned poklesla. Tento nárůst byl poté následován dvěma podobnými nárůsty, avšak s nižšími koncentracemi 235. a 254. den pokusu na hodnoty koncentrací okolo 700 mg/l. Od 275. dne pokusu křivka hodnot koncentrací vykazovala rostoucí tendenci. Tento růst vyústil v hodnotu koncentrace 930 mg/l, po které následovalo výrazné snížení produkce N-NO₂⁻, která opět rostla po 368. dni pokusu.

5.2.2 Účinnost přeměny N-amon na N-NO₂⁻

Účinnost přeměny N-amon na N-NO₂⁻ vyjadřuje efektivitu fungování M7 systému z hlediska kumulace dusitanů. V M7 reaktoru byl použit suspendovaný kal, který by dle literatury měl mít nejlepší předpoklady pro přeměnu, a to díky dosažení vyššího poměru AOB/NOB nežli u ostatních forem biomasy tzn. granulovaný kal a biofilm (Malovanyy et al. 2015). V práci od Kouba & Bartáček (2019) je uvedena průměrná hodnota 57 % oxidace amoniakálního dusíku na dusitanový dusík. V této práci byla dosažena vyšší přeměna a její

průměrná hodnota byla 66 %. V grafu č. 5 je znázorněn vývoj křivky metabolizace amoniakálního dusíku na dusitanový.

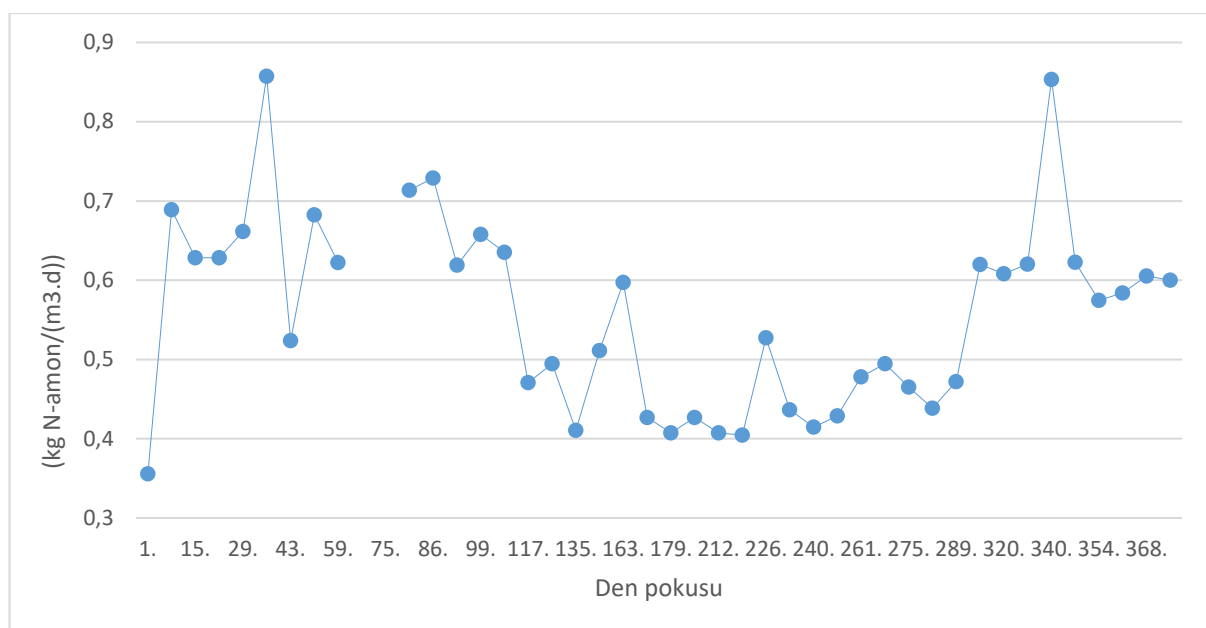


Graf č. 5 Procentuální přeměna amoniakálního dusíku na dusitanový dusík v M7 reaktoru

Účinnost přeměny N-amon na NO₂⁻ byla vypočítána opět v široké škále a to od 28 do 89 %. Hodnoty výrazně kolísaly. Rostoucí tendence křivky může být označena v období od 81. dne pokusu do 135. dne pokusu. Nejnížší efektivita přeměny bylo dosaženo na začátku a krátce před koncem pokusu. Při srovnání grafů hodnot koncentrací N-amon na vstupu do M7 reaktoru, odtoku z reaktoru M7 a přeměny forem N-amon na N-NO₂⁻ je možno vidět, že nejvyšší efektivita přeměny bylo dosaženo 282. den pokusu. Měření s nejvyšší efektivitou přeměny N-amon na N-NO₂⁻ jsou zaznamenány v bodech, kdy jsou koncentrace N-amon na vstupu v nižších hodnotách, respektive v rozmezí od 607 mg/l do 658 mg/l N-amon. Naopak vyšší a koncentrace N-amon na vstupu byly převedeny s nižší efektivitou.

5.2.3 Objemové zatížení v M7 systému amoniakálním dusíkem

Objemové zatížení amoniakálním dusíkem bylo ovlivněno objemem reaktoru, průtokem v M7 systému a koncentracemi amoniakálního dusíku. Objem reaktoru a průtok zůstaly po celou dobu pokusu neměnné a jediný faktor, který měl vliv na měnící se hodnotu Bv N-amon byly koncentrace vstupní vody. Správně nastavené Bv je pro ideální průběh procesu velmi důležité (Connan et al. 2018). Hodnoty Bv N-amon jsou znázorněny v grafu č. 6.



Graf Č. 6 Objemové zatížení amoniakálním dusíkem pro M7 systém.

Objemové zatížení amoniakálním dusíkem bylo navýšeno z nejnižší hodnoty pokusu hned prvního dne pokusu a to z hodnoty 0,355 kg N-amon/(m³·d) na hodnotu 0,689 kg N-amon/(m³·d). Nejvyššího objemového zatížení bylo dosaženo 36. a 340. den pokusu. Hodnoty objemového zatížení činily v těchto fázích experimentu cca 0,850 kg N-amon/(m³·d). Poměrně konstantní objemové zatížení bylo pozorováno v období od 117. dne pokusu do 289. dne pokusu. V tomto období byly nejčastěji zaznamenány hodnoty v rozmezí 0,404 kg N-amon/(m³·d) až 0,494 kg N-amon/(m³·d).

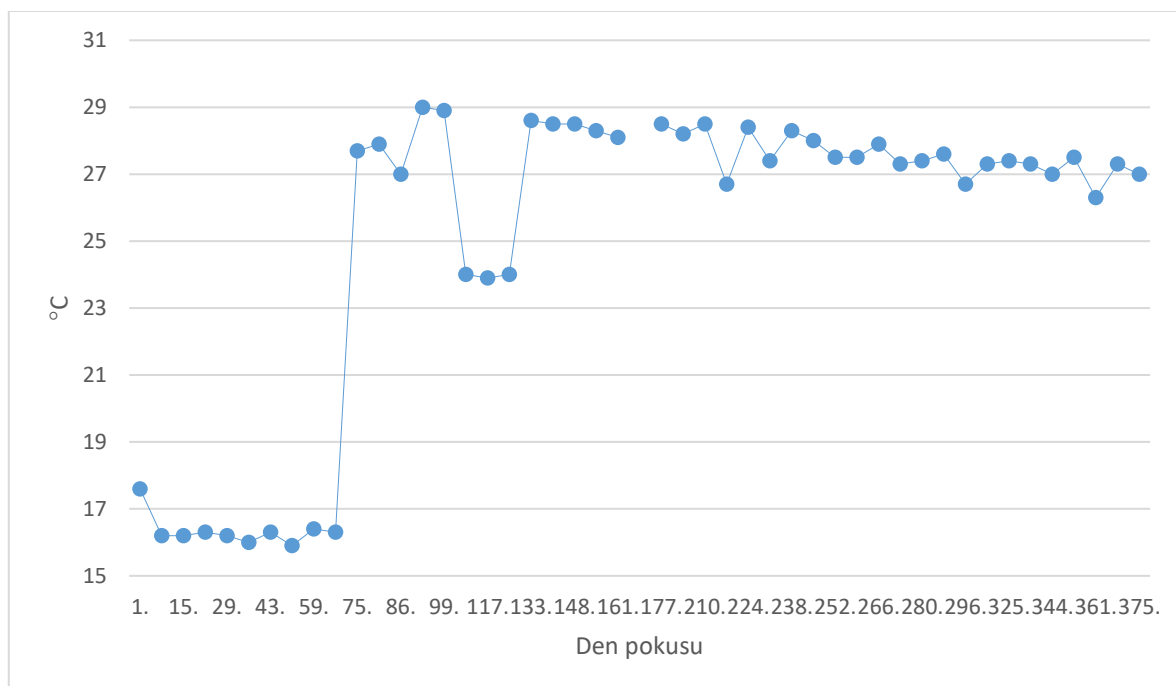
5.3 AN-1 systém

AN-1 byl systém určený pro anammox proces. Cílem jeho provozu byla transformace amoniakálního a dusitanového dusíku na plynný dusík s nízkou produkcí dusičnanového dusíku. Po snížení teploty v reaktoru na hodnotu cca 15 °C bylo v reaktoru pozorováno snížení efektivity a koncentrací, které indikovaly změnu průběhu anammox procesu. Indikační koncentrace byly procentuální přeměna koncentrací amoniakálního a dusitanového dusíku na plynný a dusičnanový dusík. V AN-1 systému poté byly aplikovány procesy vycházející z vědecké literatury ve snaze obnovit funkci reaktoru pro anammox proces.

5.3.1 Změna teploty v průběhu pokusu

Inhibiční efekt snižující se teploty na anammox mikroorganismy je často zmiňován, například v práci od Tomaszewski et al. (2017) nebo Liu et al. (2018), kdy byla zdokumentována snížená aktivita anammox mikroorganismů při nízkých teplotách. Inhibiční vlivy mohou být však překonány a biomasa může být aklimatizovaná nebo reaktivována při použití správných postupů (Raudkivi et al. 2017; Tomaszewski et al. 2017; Liu et al. 2018).

Po inhibici vzniklou teplotním šokem byla teplota v AN-1 systému navýšena a pohybovala se v rozmezí 24 až 29 °C. Naměřené teplotní hodnoty jsou znázorněny v grafu č. 7.



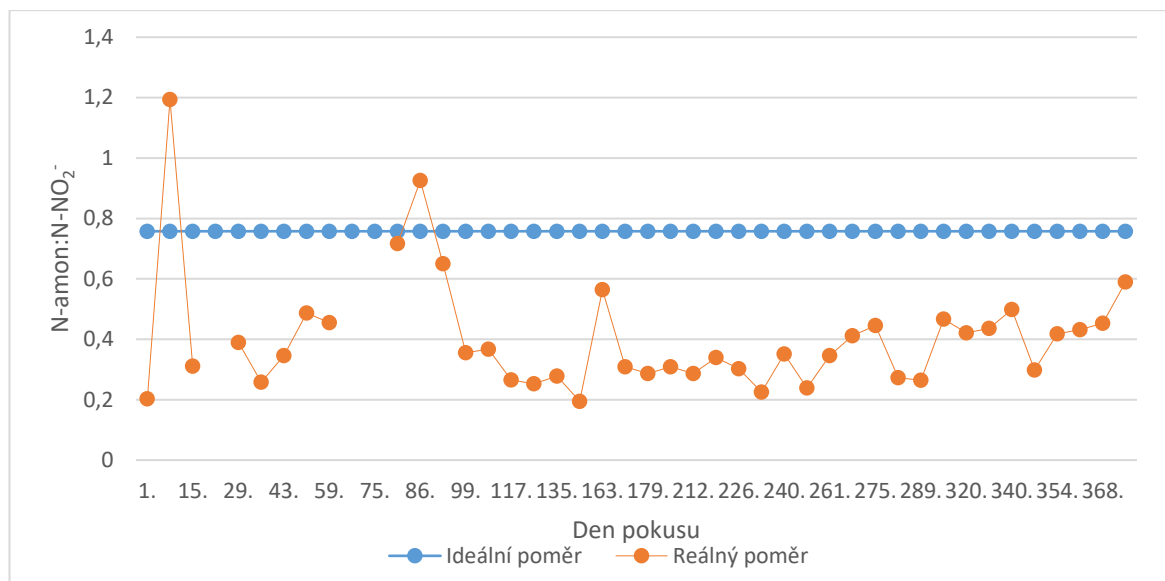
Graf č. 7 Teplota v anammox reaktoru.

V začátcích pokusu byl testován vliv snižující se teploty na anammox proces, proto je teplota do 67. dne pokusu nižší v rozmezí od 18 °C do 16 °C. Poté došlo kvůli problémům s udržitelností anammox procesu ke zvýšení teploty ve snaze obnovit aktivitu anammox mikroorganismů.

V tab. č. 4, která je poskytnuta dále v textu, je uveden přehled změn teploty v anammox reaktoru. Z grafu č. 7 je možné vidět, že přesných hodnot dle plánu úpravy nebylo nikdy dosaženo. Teplota nikdy nedosahovala 30 °C v horní hranici ani 15 °C v dolní teplotní hranici.

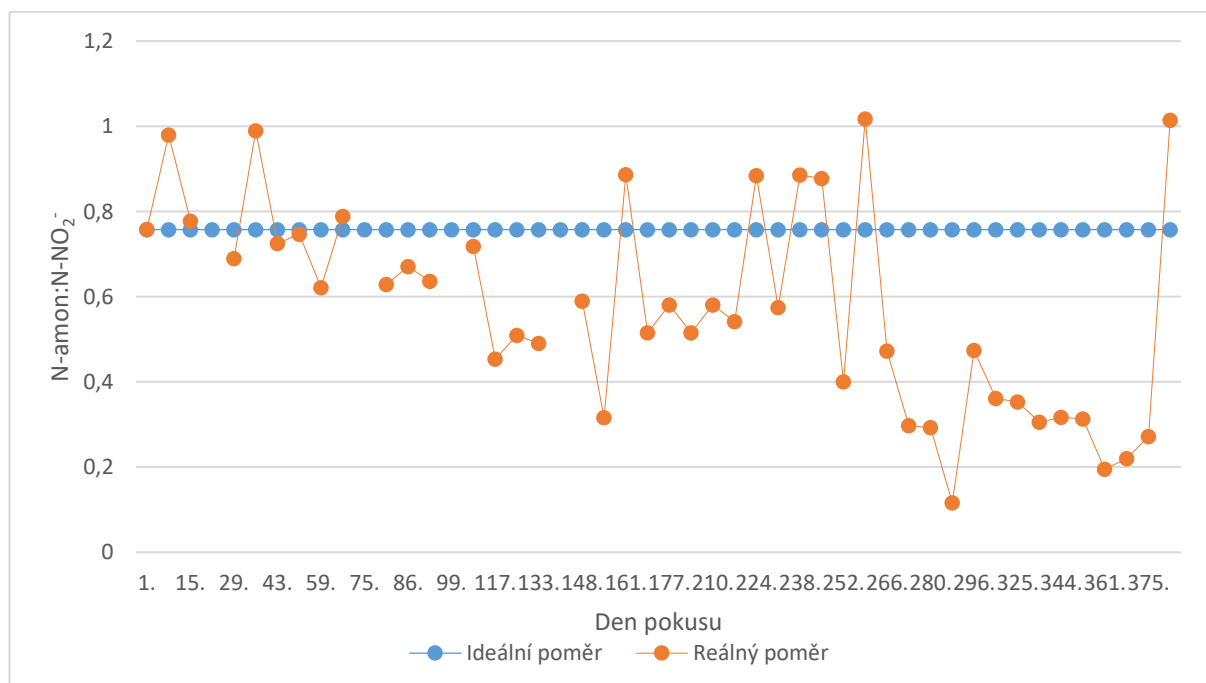
5.3.2 Úprava poměru koncentrací amoniakálního a dusitanového dusíku

Ideální poměr vycházející ze stechiometrie anammox procesu je pro N-amon a N-NO_2^- 1:1,32. Ten je stanoven rovnicí anammox procesu a s oddálením se od tohoto poměru dochází ke snižování efektivity anammox procesu (Strous et al. 1998). Výsledek tohoto zlomku (1:1,32) je hodnota 0,758. Tato hodnota je v grafech č. 8 a 9 znázorněna jako hranice ideálního poměru a vizualizuje ideální poměr mezi koncentracemi amoniakálního a dusitanového dusíku. Grafy 8 a 9 jsou poté porovnány v rámci zjištění efektivity úpravy vstupní vody do AN-1 systému. Graf č. 8 znázorňuje odpadní vodu neupravenou a graf č. 9 vodu upravenou.



Graf č. 8 Srovnání dosaženého poměru N-amon a N-NO₂⁻ ku ideálnímu poměru po odtoku z M7 reaktoru.

Poměr koncentrace N-amon ku koncentraci N-NO₂⁻ byl na odtoku z M7 reaktoru naměřen v nižších hodnotách nežli poměr N-amon ku N-NO₂⁻ potřebný k uspokojivému průběhu anammox procesu v AN-1. Největší přiblížení k ideálnímu poměru bylo dosaženo 81. den pokusu. V ten den byly koncentrace N-amon na odtoku z M7 327 mg/l a koncentrace N-NO₂⁻ byla 457 mg/l. Druhý bod, který se blížil k ideálnímu poměru již méně, přesto se jednalo u druhý nejefektivnější bod celého měření, nastal 93. den pokusu za podobných koncentrací a to N-amon 314 mg/l a N-NO₂⁻ 482 mg/l.

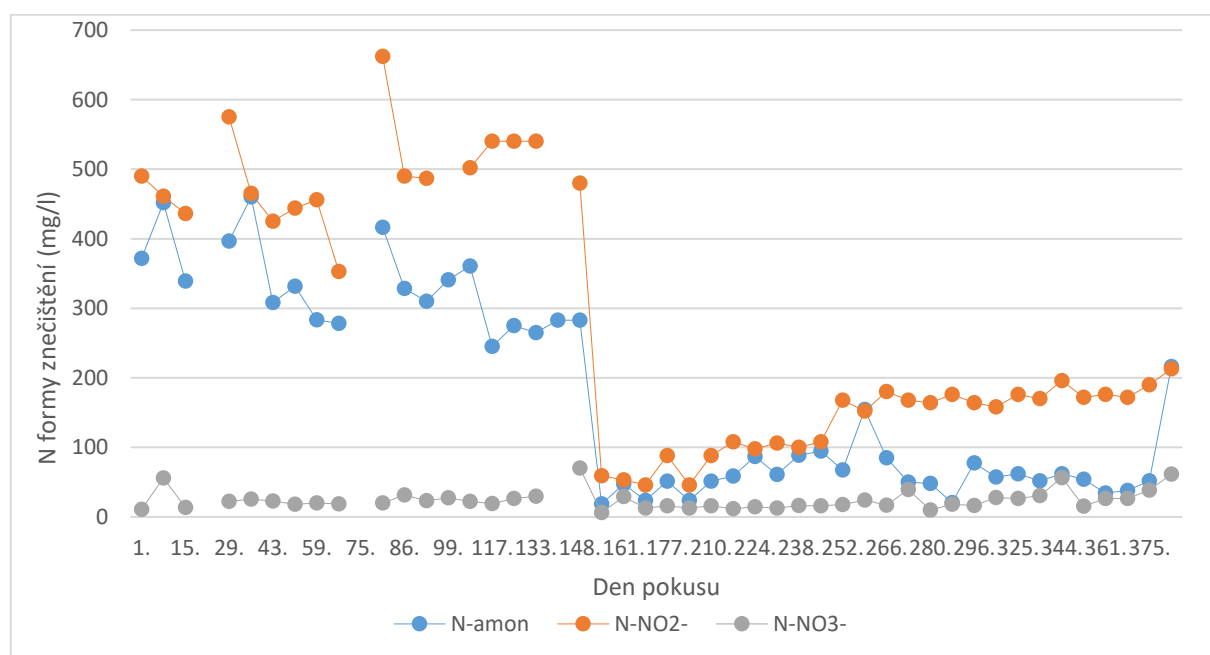


Graf č. 9 Srovnání poměru N-amon a N-NO₂⁻ ku ideálnímu poměru po úpravě odpadní vody před vstupem do AN-1 reaktoru.

Z grafu je vidět, že nejvíce se poměr blížil ideálu v počátcích pokusu, respektive v období od 1. dne pokusu do 108. dne pokusu. Poté opět docházelo ke kolísavosti a k největšímu vzdálení od ideálu došlo 287. den pokusu. Hodnoty pod osou ideálního poměru ukazují na nadbytek N-NO₂⁻ a hodnoty nad osou ukazují na nadbytek N-amon.

5.3.3 Koncentrace jednotlivých forem dusíkatého znečištění na přítoku do AN-1 reaktoru

Stejně jako v práci od Niu et al. (2016) a Zhao et al. (2014) byla manipulace s koncentracemi jednotlivých forem dusíku ve vstupní vodě klíčovou pro ovlivnění procesů přímo v reaktoru AN-1. V literatuře nebyla zmínka o kontrolních postupech, které by manipulovaly s koncentracemi N znečištění nebo pH přímo v reaktoru. Vstupní voda byla často upravována. To a celkový charakter odpadní vody lze sledovat na grafu č. 10.



Graf č. 10 Koncentrace N znečištění před vstupem do AN-1 reaktoru.

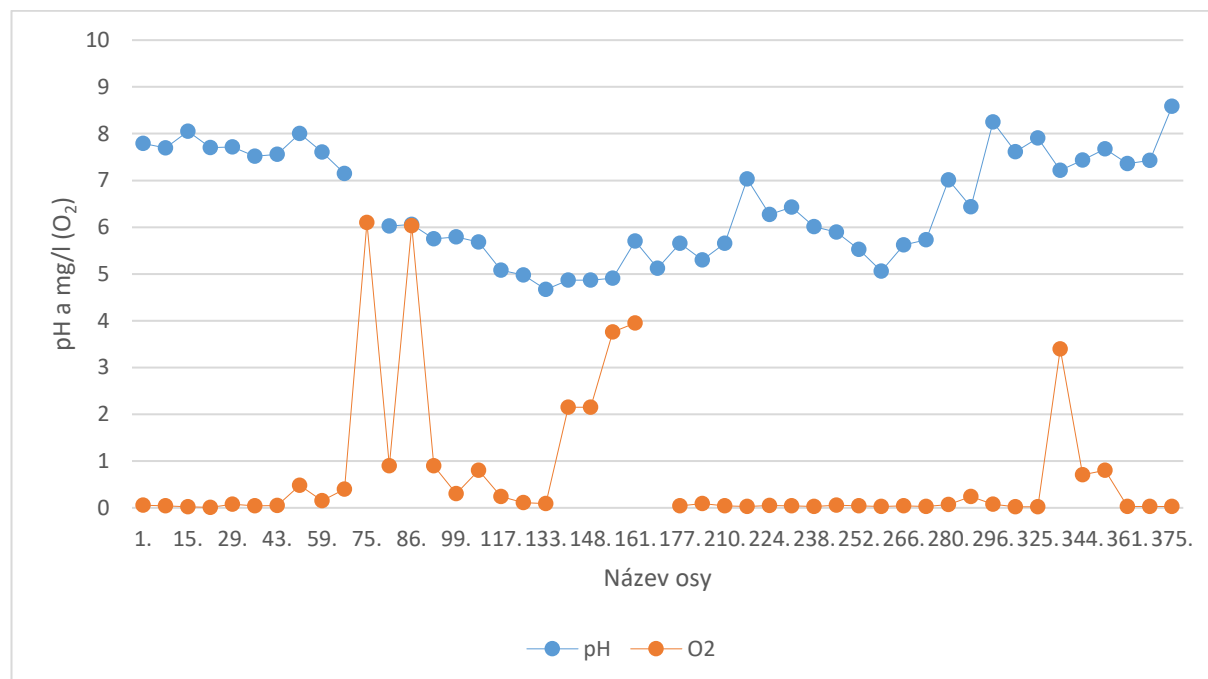
Koncentrace ve vstupní vodě jsou výsledkem funkce M7 systému a následné úpravy pro optimalizaci poměru pro ideální poměr mezi N-amon a N-NO₂⁻. Je zřetelné, že před 156. dnem vstupovaly do reaktoru vyšší koncentrace dusíkatého znečištění. Koncentrace N-amon se pohybovala v rozmezí 245 až 465 mg/l, koncentrace N-NO₂⁻ pak mezi hodnotou 353 a 662 mg/l a N-NO₃⁻ v rozmezí 11 až 70 mg/l. Následná razantní změna hodnot koncentrací, která byla vidět převážně na křivce N-amon a N-NO₂⁻ je důsledek práce se systémem AN-1 a to převážně ředěním vstupní vody vodovodní vodou a úpravou průtoku vstupní vody. Detailně jsou úkony provedené pro obnovu funkce anammox reaktoru popsány v tabulkách č. 1,2,3 a 4.

Nejvýraznějším procesem, který je zřetelný na grafu č. 9, je kumulace dusitanového dusíku po 156. dni pokusu.

5.3.4 Hodnota pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku v AN-1 reaktoru

Hodnota pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku byly měřeny a upravovány jakožto jedny z hlavních faktorů pro účinný průběh anammox procesu. Vliv pH na proces anammox a jeho ideální hodnota je diskutované téma. Doporučované rozmezí se nachází mezi hodnotami 6,5 až 9,3 (Carvajal-Arroyo et al. 2014, Lu et al. 2017; Gao & Tao 2011). Práce od Niu et al. (2016) však doporučuje pH v úzkém rozmezí 7,8 až 8,0 s doloženými výsledky o inhibičních procesech objevujících se při snížení hodnoty pH pod 7. V tomto bodě dochází k nárůstu koncentrací volné kyseliny dusité. Při překročení pH 9 pak byl evidován nárůst koncentrací volného amoniaku. Obě formy jsou inhibiční látkou. Přesto je volná kyselina dusitá agresivnějším inhibitorem anammox procesu (Zhang et al. 2016; Niu et al. 2016).

Vyšší koncentrace rozpuštěného kyslíku jsou jednak toxické pro anammox mikroorganismy a zároveň při vyšších koncentracích a přesunu z anaerobního prostředí do aerobního umožňují existovat jiným mikrobiálním skupinám, které mohou v reaktoru provádět transformaci jednotlivých forem dusíkatého znečištění. Při vyšších koncentracích mohou být aktivní AOB a NOB. Koncentrace rozpuštěného kyslíku pod hodnotou 0,5 mg/l by měly zamezit aktivitě NOB (Guo et al. 2009). V literatuře se však setkáváme s doporučením o nižší hodnotě koncentrace rozpuštěného kyslíku pro inhibici AOB. Nulové koncentrace jsou nezbytné u jednoreaktorových systémů, kde jsou koncentrace rozpuštěného kyslíku potřebné pro částečnou nitrifikaci. Ve dvoureaktorovém systému však může docházet k nulovým koncentracím a tím zamezit potenciální inhibici anammox organismů jinými mikrobiálními skupinami. Hodnoty pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku v průběhu pokusu v AN-1 reaktoru jsou znázorněny v grafu č. 11.



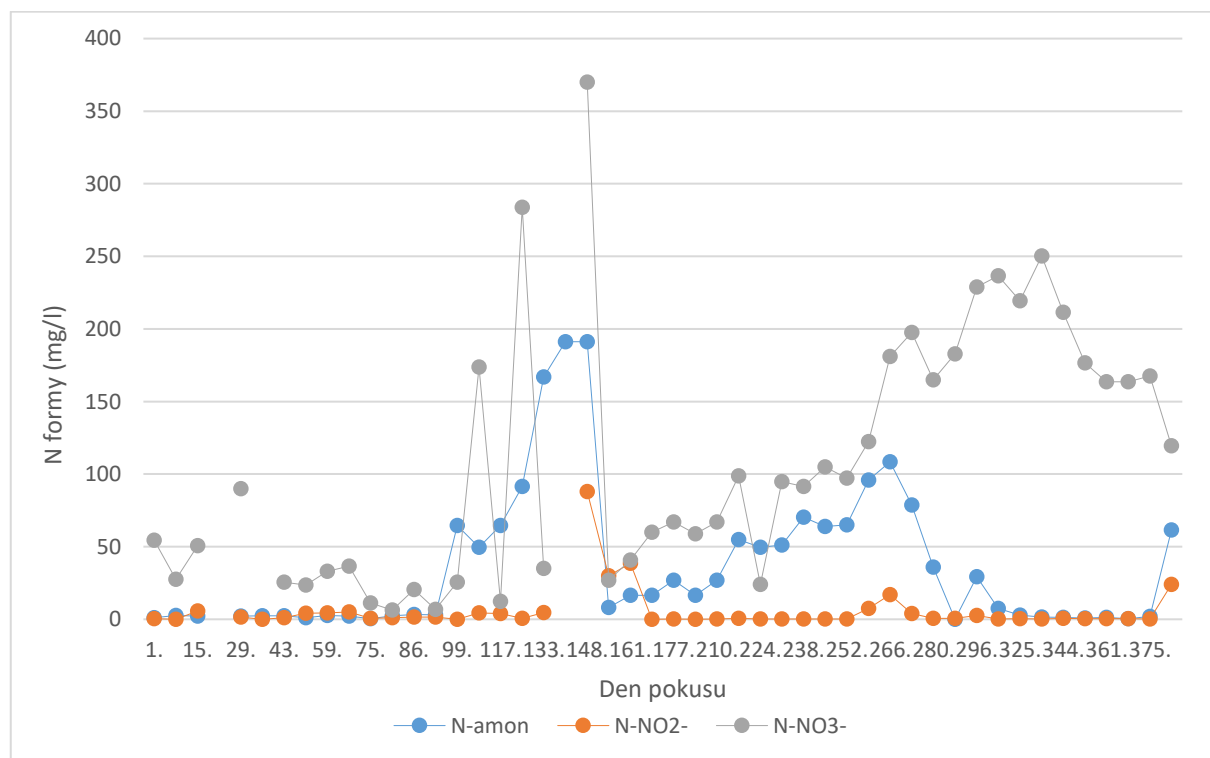
Graf č. 11 Hodnoty pH a rozpuštěného kyslíku v A-1 reaktoru.

Křivka pH do 50. dne pokusu ukazovala vyšší hodnoty pH v rozmezí 7,5 až 8. Poté začalo docházet v reaktoru k okyselení a k propadu na hodnotu 4,7 133. den pokusu. Z této hodnoty, s mírným kolísáním hodnota pH stoupala až do 217. dne pokusu, kdy dosáhla hodnoty 7. Do 259. dne pokusu pak hodnota pH opět klesala na hodnotu 5. Od tohoto dne pak s menším kolísavostí hodnota pH stoupala až do konce pokusu.

Koncentrace rozpuštěného kyslíku byla do 43. dne pokusu prakticky nulová. 50. den pokusu byla naměřena poprvé vyšší hodnota a to 0,48 mg/l. Poté byly pozorovány dva masivní, po sobě následující nárůsty koncentrací rozpuštěného kyslíku. 75. a 86. den pokusu vystoupala koncentrace rozpuštěného kyslíku na cca 6 mg/l. Po druhé špičce se koncentrace rozpuštěného kyslíku podařilo snížit na hodnotu 0,3 mg/l dosaženou 99. dne. Poté však opět hodnoty stoupaly až hodnotě 4 mg/l, tato hodnota byla naměřena 161. den pokusu. Poté se hodnoty opět blížily nule, tentokrát po delší období a to od 177. dne pokusu do 325. dne pokus. Následný opětový nárůst na hodnotu 3,4 mg/l byl pozorován 340. dne pokusu a hodnota 0,03 mg/l byla naměřena v posledních třech měřeních pokusu.

5.3.5 Koncentrace jednotlivých forem N znečištění na odtoku z AN-1 reaktoru

Koncentrace N forem znečištění byly klíčové pro vyhodnocování procesů probíhajících v reaktoru. Zejména výpočet účinnosti přeměny jednotlivých forem N znečištění a samotné stanovení hodnot koncentrací. Výsledky měření za celou dobu pokusu jsou znázorněny v grafu č. 12.



Graf č. 12 Koncentrace měřené na odtoku z AN-1 reaktoru.

Odtok z AN-1 reaktoru reflektoval procesy probíhající v reaktoru. Nejstálější křivka byla křivka koncentrací N-NO₂⁻, dusitanový dusík byl po většinu času odstraňován s vysokou účinností a jeho koncentrace se pohybovaly mezi 0 a 88 mg/l. Po většinu času však dosahovaly hodnot blížících se 0 mg/l. K nárůstu koncentrací došlo před 156. dnem. 148. den pokusu, bylo zaznamenáno 88 mg/l. 156. den pokusu došlo k poklesu koncentrací a po dobu dvou měření byly zaznamenány koncentrace 27 mg/l a 41 mg/l. Poté koncentrace klesly opět na úroveň blížící se 0 mg/l. V následujícím průběhu pokusu byly pozorovány ještě dvě navýšení v koncentracích dusitanového dusíku. 266. den pokusu a 398. den pokusu.

N-amon byl do 99. dne pokusu podobně jako u N-NO_2^- efektivně přeměňován a jeho koncentrace se pohybovala okolo 0 mg/l. Koncentrace N-amon rostly do 148. dne pokusu, kdy dosáhly hodnoty 191 mg/l. Koncentrace poté byly razantně sníženy na hodnotu 8,15 mg/l, avšak následná kumulace se projevila velice brzy. Kumulativní tendence byla zakončena 266. den pokusu, po kterém koncentrace N-amon začaly klesat, 287. den pokusu koncentrace opět dosahovaly minimálních hodnot s výjimkou 296. dne. Měření ukazovalo opět vyšší koncentraci N-amon poslední den měření a to 61,6 mg/l.

N-NO_3^- byl dominantní formou na odtoku z AN-1 reaktoru. Koncentrace N-NO_3^- se do 93. dne pohybovaly v rozmezí od 6 mg/l do 90 mg/l. Poté následovaly 3 výrazná navýšení vždy doprovázená rázným poklesem na hodnotu od 12 mg/l do 35 mg/l. Od 156. dne pokusu koncentrace rostly s výjimkou 224. dne pokusu, kdy byla naměřena významně nižší hodnota 24 mg/l. 226. den docházelo stále ke kumulaci N-NO_3^- v AN-1 reaktoru, zatímco v ten samý den začalo docházet k vyšší přeměně N-amon. Hodnota koncentrací N-amon a N-NO_2^- začala poté opět růst ve stejný den, tedy 375. den pokusu, jako začaly hodnoty koncentrací N-NO_3^- klesat.

5.4 Procesy realizované za účelem obnovení funkce v AN-1 reaktoru

Dle literatury mezi nejčastěji používané procesy pro obnovení anammox aktivity po krátkodobé nebo dlouhodobé inhibici patří vypláchnutí inhibičně se projevujících koncentrací N znečištění, zejména pak N-NO_2^- . K tomuto procesu je použita vodovodní voda, která by neměla obsahovat významné koncentrace N znečištění (Zhao et al. 2014). Dále je používána úprava koncentrací na vstupu do reaktoru. Toho bylo dosaženo také pomocí vodovodní vody a jejím ředěním vstupní odpadní vody. Dále byla provedena změna teploty v celém systému AN-1 a změna pH na vstupu do AN-reaktoru (Niu et al. 2016). Jednotlivé zákroky realizované za účelem obnovení uspokojivé funkce reaktoru v rámci této diplomové práce jsou v návaznosti na den pokusu uvedeny v tabulkách 6 až 9.

Úprava vstupního substrátu pro AN-1	
Datum	Poměr vstupního substrátu: vodovodní voda
72.-75.	0:1. Reaktor byl proplachován vodovodní vodou bez vstupu odpadní vody.
75.	1:0. Do reaktoru byla opět zavedena odpadní voda bez ředění.
139-149.	0:1. Reaktor byl opět proplachován vodovodní vodou.
149.	1:10
219.	1:4
258.	1:0. Reaktor po 6 hodinách nebyl schopen zpracovávat dusitanový dusík a docházelo ke kumulaci N-NO_2^- .
261.	1:1
266.	1:2

Tab. č. 6 Ředění vstupní vody před vstupem do reaktoru AN-1.

Úprava průtoku v AN-1	
Datum	Změna průtoku
72.	10 % max. výkonu čerpadla. Vtékala vodovodní voda
75.	0,1 %. Vstupní substrát.
82.	0,2 %. Vstupní substrát.
133.	0,8 %. Vstupní substrát.
139.	3,2 %. Vstupní substrát.
139.-140.	20 %. Vodovodní voda.
164.	3 %. Vstupní substrát.
258.	1,5 %. Vstupní substrát.

Tab. č. 7 Změna průtoku v systému AN-1.

Změna pH ve vstupním substrátu pro AN-1	
Datum	Provedení
261.	pH upraveno na hodnotu 8 pomocí NaOH (100 g/l)
266.	pH upraveno na hodnotu 8 pomocí NaOH (100 g/l)
275.	pH upraveno na hodnotu 9 pomocí NaOH (100 g/l)
282.	pH upraveno na hodnotu 9 pomocí NaOH (100 g/l)
290.	pH upraveno na hodnotu 10 pomocí NaOH (100 g/l)
299.	pH upraveno na hodnotu 9 pomocí NaOH (100 g/l)
376.	pH upraveno na hodnotu 9 pomocí NaOH (100 g/l)

Tab. č. 8 Změna pH provedená na vstupní vodě v AN-1 systému.

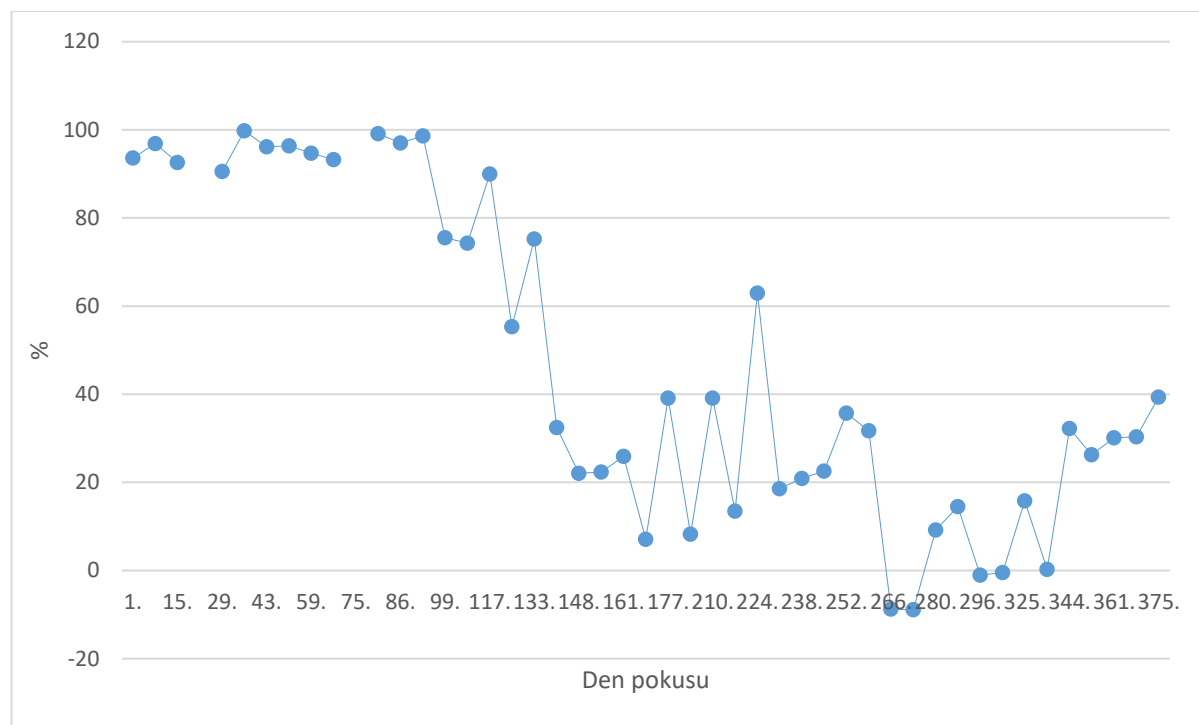
Změna teploty v AN-1	
Datum	Provedení
68.	Snížení teploty z 16 °C na 15 °C
72.	Zvýšení teploty na 30 °C
100.	Snížení teploty na 25 °C
126.	Zvýšená teploty na 30 °C

Tab. č. 9 Změna teploty v AN-1 systému.

5.5 Účinnost přeměny a odstranění N forem znečištění v AN-1 reaktoru

Účinnost přeměny N forem v AN-1 systému vyjadřuje v jaké míře bylo znečištění přeměněno. Hodnotí vstupní a výstupní koncentrace z AN-1 reaktoru. Porovnání grafů 13, 14 a 15 v této práci objasňuje procesy probíhající v reaktoru. V ideálním případě je anammox procesem přeměněn všechen N-amon a N-NO_2^- na plynný dusík a 11 až 13 procentní přeměna na N-NO_3^- . Graf přeměny celkového anorganického dusíku by tedy měl dosahovat účinnosti 87 až 89 %. Účinnost přeměny N-amon stejně jako N-NO_2^- by měla být 100 % a účinnost přeměny N-NO_3^- by měla dosahovat záporných hodnot mezi 11 až 13 % (Strous et al. 1998; Kouba & Bartáček 2019). Účinnost odstranění jednotlivých forem N znečištění je znázorněna v grafech 13, 14, 15.

5.5.1 Odstranění celkového anorganického dusíku



Graf č. 13 Účinnost odstranění celkového anorganického dusíku.

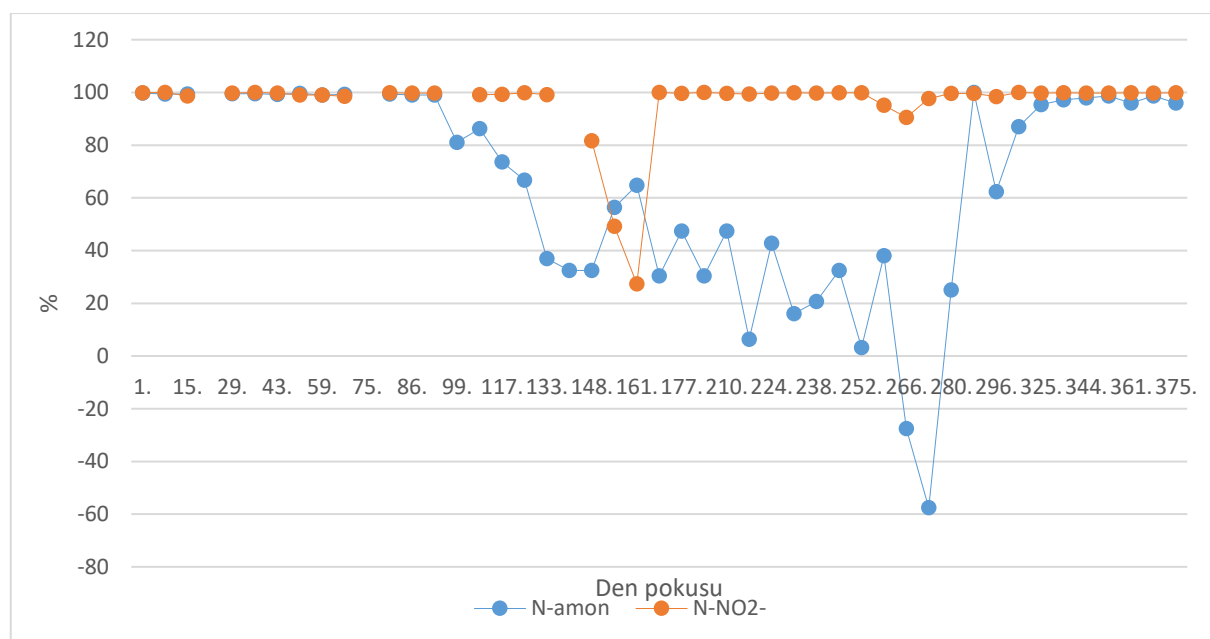
Účinnost odstranění celkového anorganického dusíku byla procentuálně stabilní od začátku pokusu do 93. dne pokusu. V tomto období neklesla efektivita pod 90 %. Po 93. dni pokusu je zaznamenáno snížení efektivity a její značné kolísání.

Situace byla nejkritičtější mezi 266. a 273. dnem pokusu. V tomto období mikrobiální společenstva nebyla schopná vykazovat dostatečnou aktivitu a docházelo k hromadění N-anorg v odpadní vodě vytékající z AN-1 reaktoru. Jedinou formou dusíku, která v tomto období podléhala biochemické transformaci, byl N-NO_2^- . Ostatní formy vykazovaly zápornou účinnost přeměny.

Z grafů 13, 14 a 15 je možné vidět, že snížení přeměny započalo u všech forem kromě N-NO_2^- po 93. dni pokusu. N-NO_2^- podléhal 100% přeměně do 133. dne. Poté se účinnost přeměny začala snižovat a 161. den byla 28 %. Při dalším měření o týden později dosahovala opět hodnoty 100 %.

Pozitivní vývoj situace je pozorovaný po 354. dni. Účinnost přeměn všech forem N znečištění stoupá. Respektive účinnost přeměny N-amon a N-NO_2^- je od 354. dne prakticky 100 % a se zvyšující se přeměnou N-NO_3^- dochází ke zlepšení účinnosti přeměny celkového anorganického dusíku.

5.5.2 Účinnost odstranění N-amon a N-NO₂⁻ AN-1 reaktorem

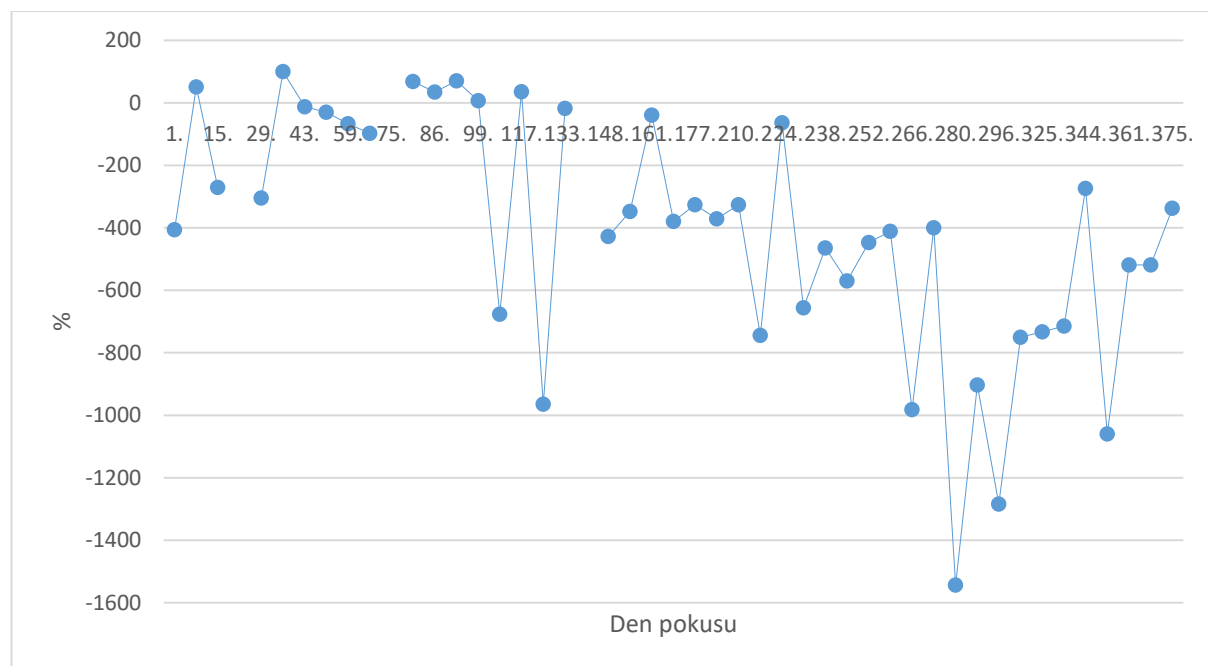


Graf č. 14 Účinnost odstranění N-amon a N-NO₂⁻ v AN-1 reaktoru.

V reaktoru AN-1 byla sledována efektivita odstranění N-NO₂⁻, která dosahovala většinu doby pokusu téměř 100 %. Výjimkou je větší odchýlení od ideálního stavu, které započalo 148. den pokusu a pokračovalo snížením efektivity na 27,3 % 161. den pokusu. Další měření však ukazovalo již 100 % účinnost přeměny až do 259. dne, kdy efektivita klesla na 90 %. Efektivita v posledních dnech sledování prakticky dosahovala 100% .

Efektivita odstranění N-amon dosahovala podobných hodnot jako u dusitanového dusíku. Opět také došlo ke snížení efektivity, avšak dříve a posléze na nižší procentuální hodnoty. Snížení efektivity započalo již 93. den pokusu a pokračovalo do 133. dne pokusu na hodnotu 37 %. Poté efektivita po dobu třech měření opět rostla. Tento růst byl však ukončen 161. dnem, od kterého efektivita silně kolísala a propadla se až na hodnotu -57 % 273. den pokusu, která indikovala hromadění amoniakálního dusíku. Poté efektivita prudce rostla a ustálila se na hodnotě 99 % 325. den pokusu až po zbytek pokusu.

5.5.3 Účinnost odstranění N-NO_3^- v AN-1 reaktoru



Graf č. 15 Účinnost odstranění N-NO_3^- v AN-1 reaktoru.

Účinnost odstranění N-NO_3^- je po většinu času pokusu v záporných hodnotách. Vyjadřuje tak kumulaci N-NO_3^- v odpadní vodě na odtoku nebo metabolickou přeměnu z ostatních forem N znečištění. Účinnost se pohybovala v rozmezí od – 1454 až do 100 %. Na konci pokusu docházelo k přiblížování se ideální míře odstranění.

6 Diskuze

6.1 Systém M7 pro částečnou nitrifikaci a kumulaci dusitanového dusíku

6.1.1 Vyhodnocení funkce systému M7

Model M7 sloužil primárně jako zdroj N-NO_2^- a N-amon pro anammox proces probíhající v systému AN-1. Oddělení nitrifikačního reaktoru od anammox reaktoru bylo provedeno za účelem separace mikrobiálních skupin organismů, které by ve stejném prostředí mohly soupeřit o substrát a jejich koexistence by vedla k inhibici anammox mikroorganismů (Feng et al. 2017, Lotti et al. 2014). Systém používal jako hlavní kontrolní strategii pro kumulaci dusitanů v odtoku z reaktoru M7 kombinaci doby aerace a poměru volného amoniaku a volné kyseliny dusité. Tato metoda se ukázala být úspěšná, jelikož po celou dobu pokusu docházelo ke kumulaci dusitanové dusíku. Koncentrace N-NO_2^- na odtoku z M7 reaktoru byly vždy vyšší nežli koncentrace N-NO_3^- a N-amon. Pouze v případě jednoho odběru vzorku došlo k překročení koncentrace N-NO_2^- koncentrací N-amon a to 8. den pokusu, mohlo jít však o chybu v měření, jelikož z výsledků není patrná jiná anomálie, která by naznačovala kolaps nebo inhibici AOB organismů. Reaktor M7 se však potýkal s kolísavostí hodnot koncentrací jak ve vstupním substrátu, tak i v odtoku z reaktoru. Tato kolísavost byla způsobena variabilitou koncentrací ve vstupním substrátu. Na koncentraci dusíkatého znečištění skládkového výluhu i kalové vody má vliv více faktorů. V průběhu času dochází samovolně ke změně složení skládkového výluhu, dále záleží na deponovaném materiálu i na vnějším prostředí (Kulikowska & Klimiuk 2008, Marttinen et al. 2003). Kalová voda také může obsahovat rozdílné koncentrace sloučenin dusíku dle momentální situace a kvality čištěné odpadní vody. Může tak dojít k situaci, kdy se ČOV musí potýkat s vyšším dusíkatým znečištěním a tato situace je promítnuta do vyšších koncentrací dusíku v kalové vodě.

Dalším faktorem, který by mohl ovlivnit chod PN, je hodnota pH. Studie od Ruiz et al. (2003) udává, že při rozmezí pH 6,45 až 8,95 nebyl pozorován žádný výrazný efekt na změnu v kumulaci dusitanové dusíku v nitrifikačním SBR reaktoru. Hodnota pH v této práci se pohybovala v rozmezí 7,75 až 8,37 na vstupu do reaktoru. V reaktoru hodnota pH v některých dnech pokusu klesla pod dolní hranici pH. Kolísavost koncentrací na výstupu může být tedy vysvětlena jednak měnící se hodnotou koncentrací na vstupu do reaktoru a také částečnou inhibicí AOB organismů v období s pH pod hodnotou 6,45.

V práci od Guo et al. (2009) a Malovany et al. (2015) se hovoří o větší náchylnosti k inhibici u AOB vlivem snižující se teploty než u NOB. Nejnižší teplota v M7 reaktoru byla naměřena 17,3 °C a průměrná teplota v reaktoru byla 22,8 °C. Tato teplota by neměla ovlivnit množení AOB, jelikož dokumentované kritické hodnoty jsou pod 15 °C. I kdyby teplota vody negativně ovlivňovala AOB, k produkci dusičnanů by docházet nemělo, a to díky extrémně silnému inhibičnímu působení FA a/nebo FNA v podmínkách experimentu (Švehla et al. 2014). Ten by v daných podmínkách měl být zodpovědný za efektivní potlačení aktivity NOB v reaktoru. V ideálním případě, tak není možnost pro NOB započít nitrifikační fázi v M7 reaktoru (Zhang et al. 2017; Guo et al. 2009; Arriagada et al. 2017). Po odtoku z M7 reaktoru do zásobníku již odpadní voda nebyla aerována. Bylo tak vytvořeno prostředí nevhodné pro NOB a odpadní voda by neměla být metabolizována na N-NO_3^- . Inhibice způsobená FA a/nebo FNA a správně nastavená aerační doba (Kouba & Bartáček 20019, Guo et al. 2009) by tedy měly stačit při kontrole kumulace dusitanů. Přesto jsou ve výsledcích patrné nenulové koncentrace N-NO_3^- . Modusová hodnota koncentrace N-NO_3^- po zaokrouhlení na celá čísla byla 21 mg/l. Tyto koncentrace lze vysvětlit dvěma způsoby. Dusičnany byly přítomny ještě před vstupem do M7 systému. Tyto koncentrace by mohly být vysvětleny přítomností ve

skládkovém výluhu, tam je možný anorganického dusíku mineralizací organického dusíku a mohou se objevit i podmínky pro transformaci N-amon až na formu dusičnanů. To však není běžně pozorováno (Renou et al. 2008; Kulikowska & Klimiuk 2008). Druhou možností vzniku N-NO_3^- je průběh nitratační fáze. Pokud by k nitrataci částečně docházelo, jako řešení by se nabízelo zkrácení aerační doby nebo zvýšení koncentrací FA a FNA. Konec nitratační fáze může být také přesně stanoven pozorováním poklesu a vzrůstu pH při efektu zvaném amoniakální udolí. (Peng & Zhu 2006).

Pro odpověď na tuto otázku, zda-li se N-NO_3^- dostává do M7 systému ve formě vstupního substrátu nebo je produkován NOB by bylo nutné udělat spektrofotometrický rozbor na koncentraci N-NO_3^- , tento rozbor však nebyl součástí této práce.

6.1.2 Potenciál nitrtačního reaktoru a úpravy

Jednou z otázek ohledně PN při implementaci pro zpracování směsi kalové vody a skládkového výluhu bude teplota, jelikož evropské chladnější podnebí přináší nižší teploty. Dalším pozitivním faktorem je, že úprava kalové vody anaerobní stabilizací probíhá nejčastěji v mezofilních podmínkách a kal (a tedy i kalová voda) jsou tak ohřívány. Pokud by tedy byl kal po anaerobní stabilizaci rychle odvodněn, mohla by být vyšší teplota kalové vody využita ve prospěch PN a anammox procesu aplikovaného pro zpracování směsi kalové vody a skládkového výluhu.

Dalším problémem, který se bude pravděpodobně objevovat při potenciální implementaci na reálné ČOV je poměr NH_4^+ a NO_2^- . Ten je dle stechiometrie anammox procesu 1:1,32 (Strous et al. 1998). Z grafu ideálního a reálného poměru vychází, že úplně přesného poměru nebylo dosaženo nikdy. K ideálnímu poměru bylo velmi blízko hlavně v počátcích pokusu, přesto se ideál a reálný poměr v probíhajícím pokusu spíše rozcházel. Poměr musel být upravován přidávkou NH_4Cl , což představuje finanční náklad a snižování finanční výhodnosti celého procesu. Navíc by tím docházelo k iracionálnímu zvyšování zatížení systému dusíkem. Jako potenciální řešení by se nabízela kontrola a manipulace se vstupními koncentraci do systému pro PN za účelem vytvoření ideálního poměru amoniakálního dusíku a dusitanového dusíku. Pokud by bylo tohoto dosaženo, část vstupního substrátu by nebylo potřeba upravovat a místo skladování a následné úpravy by mohl být čerpán rovnou do systému provádějící anammox proces. Z výsledků však vychází, že samovolně bylo dosaženo pouze poměru silně bližšího se k ideálnímu poměru. Z výsledků však nebyla vyčtena závislost pro vznik tohoto poměru. 81. dne byla dosažen bod nejbližší ideálnímu poměru N-amon ku N-NO_2^- . Koncentrace N-amon byla 1080 mg/l na vstupu do M7 systému. Koncentrace na odtoku v M7 systému byla pro N-amon 328 mg/l a koncentrace N-NO_2^- byla 457 mg/l. Dosažení těchto koncentrací na odtoku z PN systému by tedy byla žádoucí. Avšak při sledování podobných hodnot amoniakálního dusíku na vstupu do systému podobný poměr však pozorován nebyl. Jako vysvětlení by bylo možné uvést, že při vstupu podobných koncentrací N-amon do M7 systému však byly přítomny rozdílné koncentrace ostatních forem dusíkatého znečištění, a to vedlo k oddálení od ideálního poměru. Bylo by tedy užitečné provádět měření vstupního substrátu již do systému M7 a snažit se zjistit závislosti rozdílných hodnot koncentrací dusíkatého znečištění a jejich vliv na produkci N-amon a N-NO_2^- v ideálním poměru.

Vzhledem k tomu, že N-NO_2^- byl v průběhu experimentu v odtoku z M7 vůči N-amon v přebytku vzhledem ke stechiometrii anammox procesu (Strous et al. 1998), nabízí se i možnost dosažení ideálního poměru směřováním odtoku z nitrtačního reaktoru se surovou směsí kalové vody a skládkového výluhu charakteristickou vysokou koncentrací N-amon při minimálním obsahu N-NO_2^- . Hodnota, která pravděpodobně ovlivňovala efektivitu kumulace dusitanů je objemové zatížení amoniakálním dusíkem. Z porovnání grafu přeměny na

dusitanový dusík a Bv N-amon je možno pozorovat, že nejvyšší efektivity přeměny nebylo dosaženo při nejvyšších hodnotách Bv N-amon, ale v rozmezí 0,4 až 0,53 kg N-amon/(m³.d).

Systém složený z PN/anammox procesů tedy potenciálně lukrativní z pohledu ekonomické úspory díky nižší spotřebě organické hmoty, ta je potřeba často dodávat u systému využívajících denitrifikační proces, například ve formě metanolu. Mezi nejvíce zmiňované výhody však patří i nižší náklady na aeraci. Ty jsou sníženy oproti standardní nitrifikaci o 50-60 %, díky zakončení nitrifikace na nitrifikačním stupni. Dalším faktem je také nižší produkce N₂O oproti systému využívajícímu nitrifikaci a denitrifikaci (Gao & Tao 2011; Zhang et al. 2019; Liu et al. 2018; Bowden et al. 2015).

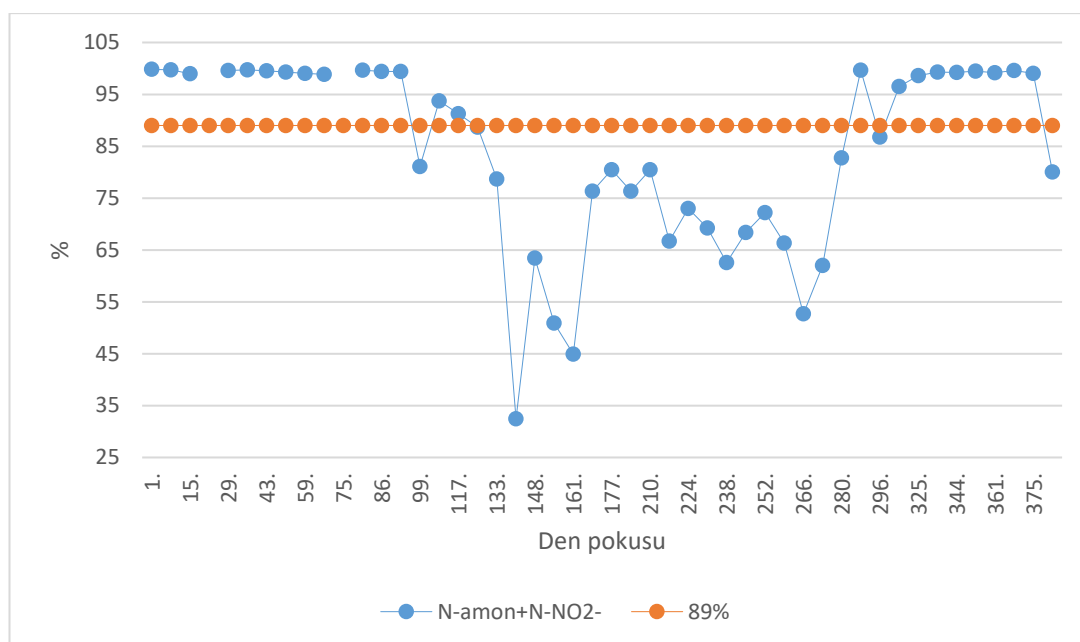
6.2 Systém AN-1 pro anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku

6.2.1 Vyhodnocení funkce AN-1 systému

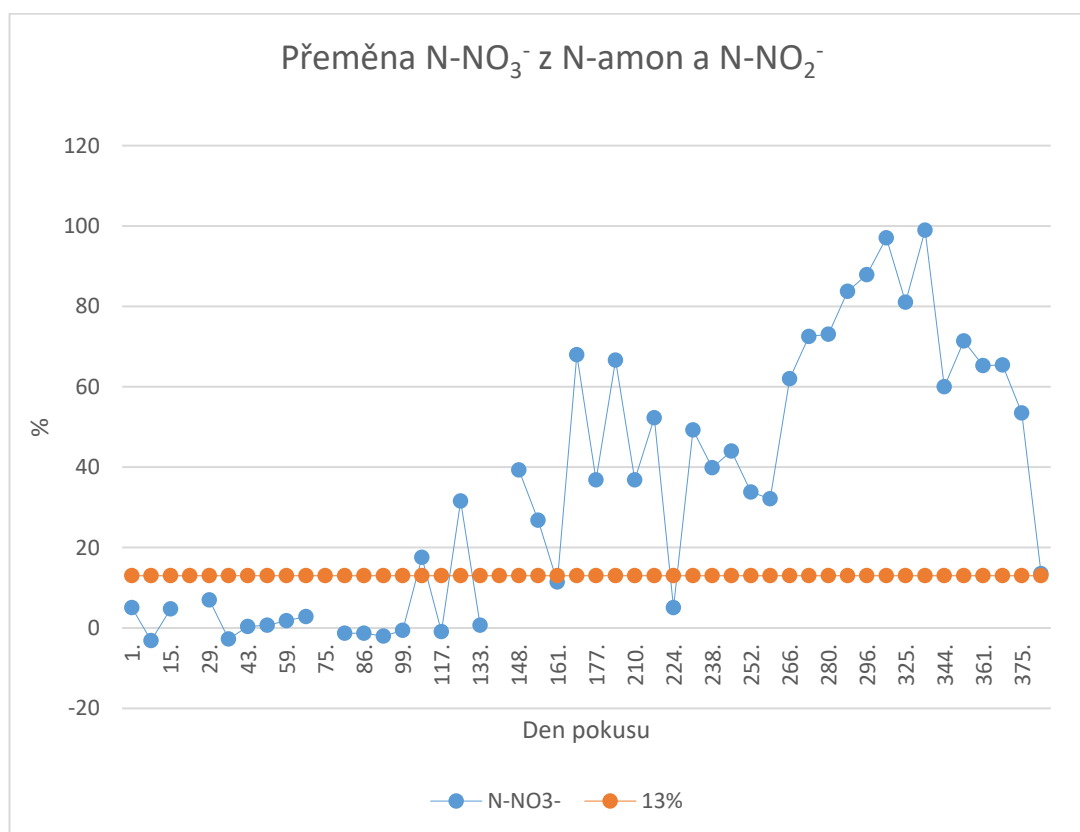
Hlavním cílem této práce, bylo popsání procesů vedoucích k obnově aktivity a funkceschopnosti v anammox reaktoru v důsledku inhibičních procesů způsobených snižovanou teplotou. Komplikovanost funkce anammox systémů při nízkých teplotách je v literatuře velmi často zmiňována (Jetten et al. 2009, Tomaszewski et al. 2017, Feng et al. 2019). V literatuře je již méně často zmiňována problematika vlivu nízkých teplot na průběh částečné nitrifikace a vliv snižující se teploty na schopnost kumulace dusitanového dusíku (Malovanyy et al. 2015). Pro vyhodnocení postupů vedoucích k obnově funkce anammox reaktoru je důležité přesně definovat anaerobní oxidaci amoniakálního dusíku a stav, při kterém je dosaženo anammox procesu.

Dle literatury koexistují v reaktorech rozdílné skupiny mikroorganismů, které v určitých podmínkách dominují nad ostatními organismy, v tomto případě nad anammox mikroorganismy (Feng et al. 2017; Lotti et al. 2014). Často zmiňovanými mikroorganismy, které jsou přítomny v anammox reaktorech jsou denitrifikační bakterie (Malovanyy et al. 2015). Samotná přeměna dusíkatého znečištění odpadní vody na plyný dusík tedy nemusí znamenat úspěšné provedení anammox procesu, jelikož transformace sloučenin dusíku může být provedena jinou mikrobiální skupinou nežli anammox mikroorganismy. Kromě denitrifikačních bakterií mohou být přítomny i organismy označované jako comammox, ty jsou stejně jako anammox mikroorganismy chemolitotrofní a mohou oxidovat amoniakální dusík na dusitanový dusík. Jde o aerobní mikroorganismy z rodu Nitrospira (Palomo et al. 2016, Chao et al. 2016).

Definici přítomnosti a funkce anammox mikroorganismů je tedy složitým úkolem. Jako parametry pro průběh procesu by tedy mohly sloužit procentuální přeměny dusíkatého znečištění. V práci od Bowden et al. (2015) je uvedeno, že 89 % ze součtu amoniakálního a dusitanového dusíku vstupujícího do procesu je převedeno na plyný dusík N₂ a 11 % je převedeno do formy dusičnanového dusíku. Tato procentuální hodnota převedení na formy dusičnanového dusíku se však liší, například v práci od Kouba & Bartáček (2019) je uvedena hodnota 13 %. Přes rozdílné procentuální hodnoty by přeměna v rozmezí 11 až 13 % společně s definovanými podmínkami jako pH a koncentrace rozpuštěného kyslíku mohla být identifikátorem průběhu anammox procesu. Procentuální přeměna koncentrací amoniakálního a dusitanového dusíku je znázorněna v grafu č. 16. Produkce dusičnanového dusíku z těchto dvou forem je uvedena v grafu č. 17.



Graf č. 16 Procentuálně vyjádřená přeměna koncentrací N-amon a N-NO₂⁻ na plynný dusík.



Graf č. 17 Produkce N-NO₃⁻ vzniklá z koncentrací N-amon a N-NO₂⁻.

Při pohledu na grafy těchto dvou kritérií a sečtení procentuální přeměny je zřetelné, že definitivně docházelo i k jiným procesům, kromě anaerobní oxidace amoniaku. Při pohledu na koncentrace forem dusíku (viz obrázek 11) je zřejmé, že místo přeměny na N₂ docházelo k přeměně na N-NO₃⁻. To by znamenalo přítomnost NOB, jejichž potlačení však mělo být zajištěno nízkými koncentracemi rozpuštěného kyslíku. Dle studie od Guo et al. (2009) by

koncentrace nižší než 1 mg/l rozpuštěného kyslíku měly zajistit inhibici NOB. AN-1 reaktor byl v určitých bodech vystaven vyšším koncentracím rozpuštěného kyslíku, který je jednak toxický pro anammox organismy a také mohl sloužit jako akceptor elektronů pro NOB při přeměně N-NO_2^- na N-NO_3^- .

Zajímavý je také pokles pH v anammox reaktoru. Z hodnoty pH 8,01 kleslo pH na 4,66. Rozmezí pH, které je pro anammox proces vhodné, je v nejširším rozmezí definované v práci od Jin et al. (2012) a to od 6,5 až do 9,3. Ostatní autoři však udávají užší rozmezí a to v hodnotách 6,7 až 8,3 (Gao & Tao 2011). V období od 75. dne pokusu do 210. dne pokusu se pH pohybovalo pod dolní vhodnou hranicí pH pro anammox proces. Toto okyselení v reaktoru by mohlo být vysvětleno probíhající nitrifikační fází. Při první fázi nitrifikace dochází k uvolnění vodíkového iontu, který vytváří kyselější prostředí. Při poklesu pH do takto nízkých hodnot v kombinaci s nižší teplotou odpadní vody pravděpodobně došlo k nárůstu koncentrace volné kyseliny dusité, která je silným inhibitorem anammox procesu. Ovlivňuje negativně procentuální přeměnu N-amon a posléze dochází ke kumulaci N-amon (Niu et al. 2016). Kumulace N-amon je zřetelná z grafu č. 12. po poklesu pH v reaktoru pod hodnotu 6 a efektivita přeměny N-amon je v tomto období také snížena. V práci od Gu et al. (2011), která shrnuje literaturu zaměřenou na inhibiční vlivy potlačující aktivitu nitrifikačních organismů, se ve shodě s Ruiz et al. (2003) uvádí inhibiční limity pH pro AOB i NOB. Tedy, že prostředí s pH nižším než 6,45 vede k inhibici obou těchto skupin mikroorganismů. Dále uvádí, že při koncentracích rozpuštěného kyslíku nad 2 mg/l nedochází k inhibici AOB ani NOB. Při koncentracích v rozmezí 0,5 až 1 mg/l dochází k částečné inhibici NOB, avšak žádné inhibici AOB. Hodnota pH v AN-1 reaktoru začala klesat ve stejný den, jako byla naměřena koncentrace rozpuštěného kyslíku 0,48 mg/l. Kumulace N-NO_2^- však na odtoku zřetelná není. 75. den byla naměřena hodnota pH v inhibičním rozmezí. Od 75. až do 93. dne pokusu však AN-1 systém dosahoval nejnižších koncentrací všech forem dusíku na odtoku. Graf přeměny na N-NO_3^- v tomto období vykazuje záporné hodnoty, což znamená že N-NO_3^- formy byly dále metabolizovány, pravděpodobně denitrifikačními bakteriemi. Na grafu č. 12 tato přeměna vidět není, toto je ovšem vysvětleno koncentracemi N-NO_3^- ve vstupním substrátu, které nevznikaly metabolizací z amoniakálního a dusitanového dusíku, ale byly již přítomny ve vstupním substrátu.

Proplachování vodovodní vodou v kombinaci s následným snížením vstupních koncentrací N-amon a N-NO_2^- vedlo v práci od Zhao et al. (2014) k reaktivaci funkce anammox reaktoru po krátkodobé i dlouhodobé inhibici. V této práci byla čištěnou odpadní voda také směs s kolísajícími koncentracemi dusíkatého znečištění. Klíčovou se však ukázala být rozdílnost kultivace biomasy. Zhao et al. (2014) i Raudkivi et al. (2017) popisují fakt, že suspendovaný kal použitý také v této práci podléhá nejvíce inhibici zvýšenými koncentracemi dusitanového dusíku a naopak popisují granulovaný kal a biofilm jako vhodnější variantu při rezistenci vůči koncentracím dusitanového dusíku. Je zde uvedeno, že granulovaný kal a biofilm byly schopny snášet koncentrace N-NO_2^- nad 400 mg/l a to se jednalo o jednoreaktorový systém. Zároveň charakterizují biofilm jako nejvhodnější způsob kultivace biomasy pro reaktivaci funkceschopnosti anammox procesu. V práci od Raudkivi et al (2017) jsou uvedeny rozdílné hodnoty IK_{50} pro N-NO_2^- . IK_{50} pro N-NO_2^- je uvedeno v širokém rozmezí od 80 mg/l do 350 mg/l N-NO_2^- . Všechny naměřené hodnoty N-NO_2^- ve vstupu do AN-1 reaktoru byly nad horní hranici IK_{50} koncentrace. V práci od Kimura et al. (2010) je uvedeno, že pro anammox proces jsou kritičtější koncentrace N-NO_2^- , nežli N-amon. Je uvedeno, že dochází k 50% inhibici aktivity anammox mikroorganismů při koncentraci 100 až 400 mg/l N-NO_2^- . Zatímco k 50 % inhibici koncentracemi N-amon dochází až při koncentracích 1000 mg/l. Je nutno uvést fakt, že většina výzkumů je provedena na jednoreaktorových systémech. Větší návaznost funkce různých mikroorganismů poté vyústí faktem, že stačí inhibovat jednu skupinu mikroorganismů a celý anammox proces je pozastaven. Zatímco ve dvoureaktorovém systému

je anammox reaktor čistě vyhrazen pro anammox mikroorganismy, které vysoké koncentrace dusitanového a amoniakálního dusíku snášejí lépe nežli AOB a NOB (Lotti et al. 2019).

Tato práce tedy operuje s myšlenkou, že anammox proces byl aktivní pouze v začátcích pokusu. Vychází z výsledků přeměny N-amon a N-NO_2^- forem a produkce N-NO_3^- , které se v počátcích blížily procentuálním přeměnám uvedených v odborné literatuře. Za hlavní inhibiční faktor je tedy považováno snížení teploty na hodnotu $16\text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5\text{ }^\circ\text{C}$.

V předchozí době pokusu byl anammox reaktorem zpracováván stejný vstupní substrát jako v této práci a reaktor fungoval dle procentuálních přeměn stanovených pro anammox. Teplota byla snižována až v rámci této práce a byla tak pravděpodobným důvodem nefunkčnosti anammox systému. Dalším tvrzením, které potvrzuje tento fakt, je samovolný vznik granulovaného kalu a naoranžovělé zbarvení vzniklé před obdobím snižování teploty. Tyto faktory jsou jedním z důkazů probíhajícího anammox procesu (Zhang et al. 2016; Pereira et al. 2017; Malovanyy et al. 2015). Tohoto nebylo dosaženo po celou dobu pokusu. Z výsledků měření vychází, že v počátcích pokusu tedy anammox reaktor vykazoval snižující se funkci, která byla jednak inhibována snižující se teplotou a zároveň vysokými koncentracemi N-amon a N-NO_2^- , dalším faktorem, který se pravděpodobně podílel na inhibici SAA, bylo snižující se pH. V tomto prostředí mohlo docházet ke vzniku koncentrací volné kyseliny dusité, která je jedním z nejagresivnějších inhibitorů anammox procesu (Gu et al. 2011, Zhang et al. 2019). Koncentrace volné kyseliny dusité mají dle Zhang et al. (2019) vyšší inhibiční efektivitu na NOB nežli na AOB. Pokud byly tedy NOB inhibovány, AOB prováděly první fázi nitrifikace s produkcí N-NO_2^- . Tato kumulace však pozorována není. Pokud v tomto období kromě koncentrací dusitanového dusíku přítomných na vstupu také dusitanový dusík vznikl v reaktoru, byl metabolizován na jiné formy.

Od 93. dne docházelo ke kumulaci všech forem dusíkatého znečištění. Kumulace N-amon formy ukazuje inhibici amoniak oxidujících organismů, to jsou buď AOB nebo anammox organismy. Od 156. do 266. dne pokusu rostly takřka souměrně koncentrace N-amon a N-NO_3^- . N-NO_2^- však byl po většinu času přítomen v minimálních koncentracích a vykazoval vysokou účinnost přeměny, jelikož koncentrace na vstupu do AN-1 reaktoru byly ze všech forem dusíkatého znečištění nejvyšší. 266. den začaly klesat koncentrace N-amon, to bylo důkazem znovuoobnovení funkce organismů odpovědných za oxidaci N-amon, bohužel vzhledem k nadměrné produkci dusičnanového dusíku, která započala ve stejný moment, jako začala klesat koncentrace N-amon, bylo předpokládáno, že N-amon byl metabolizován na N-NO_3^- .

Po většinu času pokusu nebylo dosaženo reaktivace funkce anammox reaktoru. Potenciálního počátku reaktivace však bylo dle určitých indicií dosaženo v posledních dnech pokusu. Účinnost přeměny celkového anorganického znečištění vyjádřená grafem č. 13 byla zaznamenána v rostoucích hodnotách od 340. dne. Účinnost přeměny N-NO_2^- a N-amon, která je pozorovatelná z grafu č. 14, se od 325. dne opět velmi přibližuje hodnotě 100 % a procentuální produkce N-NO_3^- metabolizovaná z N-amon a N-NO_2^- forem vyjádřená grafem č. 17 klesá k ideální hodnotě. Pro tvrzení o obnově funkce reaktoru pro anaerobní oxidaci amoniaku by bylo potřeba pokračovat dále v experimentu.

Postupy použité k obnově funkceschopnosti anammox procesu jsou tedy ponechány otevřené s konstatováním, že měření pokusu bylo ukončeno v rozhodující moment a bylo by velmi zajímavé vědět, jak by reaktor fungoval v následujících dnech. Zásadní bylo dle úsudku této práce navýšení pH viz tab. č. 8. pH reagovalo na úpravu prakticky okamžitě. Ode dne počátku úpravy se hodnota pH začala zvyšovat.

Postupy aplikované v této práci vedly například ke snížení koncentrací jednotlivých forem dusíkatého znečištění jak na přítoku do systému, tak na odtoku z něj a také k reaktivaci aktivity určitých mikrobiálních společenstev, stabilní anaerobní oxidace amoniaku však dosaženo nebylo. Jelikož AN-1 systém byl inhibičním podmínkám vystaven dlouhodobě, je pravděpodobná vysoká míra a inhibice velké části anamox mikroorganismů (Malovanyy et al.

2015). Pokud je tato domněnka pravdivá, pak v kombinaci s dlouhou dobou zdvojení anammox mikroorganismů bude doba reaktivačního procesu velmi dlouhá.

Potenciálním řešením pro rychlejší reaktivaci fungování anammox reaktoru by mohlo být použití biofilmu a granulovaného nebo suspendovaného kalu s probíhající výměnou biomasy jako ve studii od Zhao et al. (2014).

Další metodou pro obnovu a udržení anammox procesu by měla být stabilnější hodnota pH. Niu et al. (2016) jako optimální rozmezí hodnoty pH uvádí 7,8 až 8 v anammox reaktoru, kdy je maximalizován růst anammox mikroorganismů a minimalizována je zároveň koncentrace volné kyseliny dusité a volného amoniaku. Z literatury vychází, že mikroorganismy jsou schopny adaptovat se na měnící se podmínky. Ať se jedná o snižující se teplotu nebo koncentrace inhibičních látek. Musí však dojít k obnově aktivity u konkrétních mikroorganismů obsažených v biomase reaktoru, které byly přítomny po dobu inhibice.

6.2.2 Potencionální zvýšení efektivity a udržitelnosti anammox procesu

Tato práce poskytovala shrnutí informací dostupných o anammox procesu. Z těchto informací je poté možno podtrhnout určité faktory, které by mohly vést ke zlepšení a udržení stabilní funkceschopnosti anammox procesu.

Systémy, které nakládají se skládkovým výluhem mohou operovat s měnící vlastností skládkových výluhů v čase. Dle práce Kulikowska & Klimiuk (2008) mladší skládky produkují skládkový výluh s vyšší koncentrací CHSK a nižší koncentrací N-amon. V ten moment je skládkový výluh vhodnější pro konvenční metodu odstranění N znečištění a může být vpouštěn na hlavní linku ČOV, pokud tento proces a tuto linku ČOV využívá, s využitím organické složky jako substátu pro denitrifikační bakterie. ČOV Rybitví tuto linku využívá. Zároveň nižší koncentrace N-amon neovlivní tak razantně Bv amoniakálním dusíkem. Při přeměně koncentrací k nižšímu CHSK a vyššímu N-amon může být skládkový výluh převeden do PN/anammox systému.

Dalším faktorem je rozdílnost mezi anammox organismy. Ikdyž je doba dvojení obecně udávána jako dlouhá a hlavní problém při reaktivaci procesu. Jsou evidovány rozdílně dlouhé doby dvojení. Specialně by měla být poutána pozornost na druhy s krátkou dobou dvojení jako *Ca. Brocadia sp. 40*. Doba dvojení je pouze 2,1 dne (Pereira et al. 2017). Rozdílná IK_{50} dusitanovým dusíkem je také vhodnou vlastností při prevenci inhibice nebo kompletní ztrátě anammox aktivity. V literatuře je zmíněn druh a *Candidatus Kuenia stuttgartiensis* jako nejodolnější vůči koncentracím dusitanového dusíku (Raudkivi et al. 2017). Pokud by studie těchto druhů anammox mikroorganismů objevila kultivační podmínky zacílené na tyto druhy a anammox reaktory by byly kultivovány, pravděpodobně by anammox proces trpěl nižší mírou inhibice a vykazoval by vyšší reaktivační schopnost.

Jako velmi důležitá se pak projevila kultivace kalu a manipulace s hodnotami pH, která byla detailně popsána v kapitole vyhodnocení funkce AN-1 systému.

7 Závěr

Postupy aplikované pro obnovu funkce anammox reaktoru v této práci se shodovaly s doporučenými postupy dle literatury. Vedly k potenciálnímu začátku obnovy funkce a delší měření by bylo potřebné pro definitivní odpověď.

V počátcích pokusu, procentuální přeměna sloučenin dusíku ukazovala na stále probíhající, však kolísající anammox proces. Po snížení teploty nemělo dojít k tak výraznému poklesu pH, při kterém pravděpodobně došlo k nárůstu koncentrace volné kyseliny dusité, která z velké části inhibovala anammox proces. Za předpokladu, že došlo k uhynutí většiny anammox mikroorganismů, je tedy pro budoucí fungování reaktoru nutné obohatit suspendovaný kal o nové anammox mikroorganismy. Jelikož jsou krátkodobé a dlouhodobé inhibice anammox procesu běžné, bylo by vhodné využít fixně přichycený biofilm v anammox reaktoru, jelikož je charakterizován nejefektivnější schopností překonání inhibice a následné reaktivaci procesu. Následně může dojít k množení zainteresovaných mikroorganismů a k obnově a adaptaci pro anammox proces.

Zásadní se také pro proces anammox bude včasné provedení reaktivačního procesu, zejména poté kontrola pH.

8 Literatura

- A. Dapena-Mora, I. Fernandez, J.L. Campos, A. Mosquera-Corral, R. Mendez, and M.S.M. Jetten. 2007. Evaluation of activity and inhibition effects on Anam-mox process by batch tests based on the nitrogen gasproduction, *Enzyme Microb. Technol.* **40**:859–865.
- Arriagada G, Guzmán-Fierro V, Giustinianovich E, Alejo-Alvarez L, Behar J, Pereira L, Campos V, Fernández K, Roeckel M. 2017. NOB suppression and adaptation strategies in the partial nitrification-Anammox process for poultry manure anaerobic digester. *Process Biochemistry.* **58**: 258-256.
- B. Wett, M. Hell, and G. Nyhuis, Syntrophy of aerobic and anaerobic ammonia oxidisers, 2nd IWA Specialized Conference Nutrient Management in Wastewater Treatment Processes, Krakow, 2009.
- Camargo JA, Alonso Á. 2006. Ecological and toxicological effect of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystem: A global assessment. *32*:831-849.
- Carvajal-Arroyo JM, Puyol D, Li G, Sierra-Alvarez R, Fiel JA. 2014. The role of pH on the resistance of resting – and active anammox bacteria to NO₂-inhibition. *Biotechnol. Bioeng.* **10**:1949-1956.
- Connan R, Dabert P, Moya-Espinosa M, Bridoux G, Béline F, Magrí A. 2018. Coupling of partial nitrification and anammox in two- and one-stage systems: Process operation, N₂O emission and microbial community. *Journal of Cleaner Production* **203**:559-573.
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095965261832609X>. Accessed 007/23/2020.
- Costa MCMS, Carvalho L, Leal CD. 2014. Impact of inocula and operating conditions on the microbial community structure of two anammox reactors. *Environ Technol.* **35**:1–12.
- Ding S, Bao P, Wang B, Zhang Q, Peng Y. 2018. Long-term stable simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process treating real domestic sewage using suspended activated sludge. *Chemical Engineering Journal* **339**:180-188.
- Fernández I, Dosta J, Fajardo C, Campos JL, Mosquera-Corral A, Méndez R. 2012. Short- and long-term effects of ammonium and nitrite on the Anammox process. *Journal of Environmental Management* **95**:S170-S174.
- G. Bowden, B. Wett, I. Takacs, S. Murthy, A. Deur, M. Musabyimana, and N. Love, Evaluation of the single sludge deammonification process for the treatment of plant recycle streams

- containing a high ammonium concentration, 80th Annual Water Environment Federation Technical Exhibition and Conference, San Diego, CA, 2007
- Gao D, Tao Y. 2001. Versatility and application of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria. *Appl Microbiol Biotechnol.* **91**:887–894.
- Germain E, Bancroft L, Dawson A, Hinrichs C, Fricker L, Pearce P. 2007. Evaluation of hybrid processes for nitrification by comparing MBBR/AS and IFAS configurations. *Water Science and Technology* 55:43-49.
- Gonzalez-Martinez A, Osorio F, Rodriguez-Sanchez A. 2015. Bacterial community structure of a lab-scale anammox membrane bioreactor. *Biotechnol Prog.* **31**:186–193.
- Guo JH, Peng YZ, Wang SY, Zheng YN, Huang HJ, Ge SJ. 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.
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359511309001433>. Accessed 007/23/2020.
- Han X, Zhang S, Yang S, Zhang L, Peng Y. 2020. Full-scale partial nitritation/anammox (PN/A) process for treating sludge dewatering liquor from anaerobic digestion after thermal hydrolysis. *Bioresource Technology* 297.
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419316104>.
- Honzajková Y, Kubal M, Podhola M, Patočka T, Šír M, Kocourek P. 2011. Membránové technologie a jejich použití při čištění podzemních vod a skládkových výluhů. *Chem. Listy.* **31**:245-250.
- Horáková a kolektiv. 2003. *Analytika vody*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. Praha.
- Chen H, Hu H-Y, Chen Q-Q, Shi M-L, Jin R-C. 2016. Successful start-up of the anammox process: Influence of the seeding strategy on performance and granule properties. *Bioresource Technology* **211**:594-602.
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852416304424>. Accessed 007/23/2020.
- Chen S, Sun D, Chung J-S. 2008. Simultaneous removal of COD and ammonium from landfill leachate using an anaerobic–aerobic moving-bed biofilm reactor system. *Waste Management* **28**:339-346.
- Chu LM, Cheung KC, Wong MH. 1994. Variations in the chemical properties of landfill leachate. *Environ. Manage.* **18**:105-112.

- J.Y. Jung, S.H. Kang, Y.C. Chung, and D.H. Ahn. 2007. Factors affecting the activity of anammox bacteria during start up in the continuous culture reactor, *WaterSci. Technol.* **55**:459–468.
- Jensen FB. 2003. Nitrite disrupt multiple physiological function in aquatic animals. *Biochem Physiol.* **135**:9-24.
- Jetten M. S. M, van Niftrik L, Strous M, Kartal B, Keltjens JT, Op den Camp H. J. M. 2009. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Crit.Rev. Bio-chem. Mol. Biol.* **44**-65.
- Jin P, Li B, Mu D, Li X, Peng Y. 2019. High-efficient nitrogen removal from municipal wastewater via two stage nitrification/anammox process: Long-term stability assessment and mechanism analysis. *Bioresource Technology.* **271**:150-158.
- Joss A, Derlon N, Cyprien C, Burger S, Szivak I, Trabej J, Siegrist H, Morgenroth E. 2011. Combined nitrification-anammox: advanced in understanding process stability. *Environ Sci Technol.* **22**:9735-9472.
- Jung JY, Kang S, Chung Y, Ahn D. 2007. Factors affecting the activity of anammox bacteria during start up in the continuous culture reactor. *WaterSci. Technol.* **55**:459–468.
- Kowalski MS, Devlin TR, di Biase A, Oleszkiewicz JA. 2019. Effective nitrogen removal in a two-stage partial nitrification-anammox reactor treating municipal wastewater – Piloting PN-MBBR/AMX-IFAS configuration. *Bioresource Technology* 289. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419309721>. Accessed 007/23/2020.
- Kulikowska D, Klimiuk E. 2008. The effect of landfill age on municipal leachate composition. *Bioresource Technology.* **99**: 5981-5985.
- L.W. Jaroszynski & J.A. Oleszkiewicz. 2001. Autotrophic ammonium removal from reject water: partial nitrification and anammox in one-reactor versus two-reactor systems. *Environmental Technology.* **32**:289-294.
- Lackner S, Gilbert EM, Vlaeminck S, Joss A, Horn H, van Loosdrecht MC. 2014. Full-scale partial nitrification/anammox experiences: an application survey. *WATER RESEARCH.* **55**:292–303.
- Liu W, Yang D, Shed Y, Wang J. 2018. Two stage partial nitrification-anammox process for high-rate mainstream deammonification. *Environmental Biotechnology.* **102**:8079-8091.

- Lu X, Yin Z, Sobotka D, Wisniewski K, Czerwionka K, Xie L, Zjou Q, Makinia J. 2017. Modeling the pH effect on nitrogen removal in the anammox enriched granula sludge. *Water Sci. Technol.* **2**:378-386.
- Ma B, Zhang S, Zhang L, Yi P, Wang J, Wang S, Peng Y. 2011. The feasibility of using a two-stage autotrophic nitrogen removal process to treat sewage. *Bioresource Technology* **102**:8331-8334. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852411008200>. Accessed 007/23/2020.
- Malovanyy A, Trela J, Plaza E. 2015. Mainstream wastewater treatment in integrated fixed film activated sludge (IFAS) reactor by partial nitrification/anammox process. *Bioresource Technology* **198**:478-487.
- Malý J & Šálek J. 2002. Vodní hospodářství skládek domovního odpadu a čištění průsakových vod. CERM.
- Martinen SK, Kettunen RH, Rintala JA. 2003. Occurrence and removal of organic pollutants in sewages and landfill leachates. *Sci. Total Environ.* **301**:1-12.
- Mohammad-pajoo E, Weichgrebe D, Cuff G. 2017. Municipal landfill leachate characteristics and feasibility of retrofitting existing treatment systems with deammonification – A full scale survey. *Journal of Environmental Management* **187**:354-364. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479716308635>. Accessed 007/23/2020.
- Nikolaev YA, Kozlov MN, Kevbrina MV. 2015. Candidatus “*Jettenia moscovienalis*” sp. Nov., a new species of bacteria carrying out anaerobic ammonium oxidation. *Microbiology.* **84**(2):256–262.
- Niu Q, He S, Zhang Y, Ma H, Liu Y, Li Y-Y. 2016. Process stability and the recovery control associated with inhibition factors in a UASB-anammox reactor with a long-term operation. *Bioresource Technology* **203**:132-141. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852415016338>. Accessed 007/23/2020.
- Park G, Takekawa M, Soda S, Ike M, Furukawa K. 2017. Temperature dependence of nitrogen removal activity by anammox bacteria enriched at low temperatures. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **123**:505-511.
- Peng Y, Zhu G. 2006. Biological nitrogen removal with nitrification and denitrification via nitrite pathway. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **76**:15-26.

- Pereira AD, Cabezas A, Etchebehere C, Chernicharo CA de L, de Araújo JC. 2017. Microbial communities in anammox reactors: a review. *Environmental Technology Reviews* 6:74-93.
- Persson F, Sultana R, Suarez M, Hermansson M, Plaza E, Wilén BM. 2014. Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitrification - anammox at low temperatures. *Bioresour. Technol.* **154**: 267-273.
- Qiqi Y, Qiang H, Ibrahim HT. 2012. Review of Moving Bed Biofilm Process. *Pakistan Journal of Nutrition.* **9**:706-713.
- Raudkivi M, Zekker I, Rikmann E, Vabamäe P, Kroon K, Tenno T. 2017. Nitrite inhibition and limitation – the effect of nitrite spiking on anammox biofilm, suspended and granular biomass. *Water Science and Technology* **75**:313-321.
- Renou S, Givaudan JG, Poulain S, Dirassouyan F, Moulin P. 2008. Landfill leachate treatment: Review and opportunity. *Journal of Hazardous Materials.* **150**: 468-493.
- 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.
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004313540200475X>. Accessed 007/23/2020.
- Singh M, Srivastava RK. 2011. Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment: a review. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* **6**:3-13.
- Strous M, Fuerst JA, Kramer EHM. 1998. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature.* **400**:446– 449.
- Švehla.2004. Oddělené biologické čištění kalové vody. Vysoká škola chemicko – technologická v Praze. Praha.
- Tao Y, Gao D-W, Fu Y, Wu W-M, Ren N-Q. 2012. Impact of reactor configuration on anammox process start-up: MBR versus SBR. *Bioresource Technology* **104**:73-80.
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852411015185>. Accessed 007/23/2020.
- Tomaszewski M, Cema G, Ziembinska-Buczynska A. Significance of pH control in anammox process performance at low temperature. *Chemosphere.* **185**:439-444.
- Tran HN, Münnich K, Fricke K, Harborath P. 2013. Removal of nitrogen from MBT residues by leachate recirculation in combination with intermittent aeration. *Leichtweiss Institute for Hydraulic Engineering and Water Resources.* **32**: 56-63.

- U. van Dongen, Jetten M, van Loosdrecht M. 2001. The Sharon–Anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Sci.Technol.* **44**:153–160.
- Wang X, Yang R, Zhang Z, Wu J, Chen S. 2019. Mass balance and bacterial characteristics in an in-situ full-scale swine wastewater treatment system occurring anammox process. *Bioresource Technology* 292.
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852419312350>. Accessed 007/23/2020
- Wett B, Hell M, Nyhuis G. 2009. Nyhuis, Syntrophy of aerobic and anaerobic ammonia oxidisers, 2nd IWA Specialized Conference Nutrient Management in Wastewater Treatment Processes, Krakow.
- Ye Y, Ding Y, Jiang Q, Wang F, Sun J, Zhu C. 2017. The role of receptor-like protein kinases (RLKs) in abiotic stress response in plants. *Plant Cell Reports* **36**:235–242.
- Zhao J, Zuo J, Li P, Lin J. 2014. The performance of high-loading composite anammox reactor and its long-term recovery from extreme substrates inhibition. *Bioresource Technology* **172**:50-57. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852414012310>. Accessed 007/23/2020.
- Zhi-Chi Y, Zhang Y, Yang M, Tian Z, Liun RY, Yan FY. 2018. Start up of anammox process with activated sludge treating high ammonium industrial wastewater as a favourable seeding sludge source. *International Biodeterioration & Biodegradation*. **127**:17-25

