

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Vliv teploty na průběh procesu ANAMMOX při čištění
směsi skládkového výluhu a kalové vody**

Diplomová práce

Autor práce Bc. Anastasia Shtukaturova

Obor studia Technologie zpracování a využití odpadů

Vedoucí práce Ing. Pavel Švehla, Ph.D.

Konzultant Ing. Pavel Míchal, Ph.D.

© 2019 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv teploty na průběh procesu ANAMMOX při čištění směsi skládkového výluhu a kalové vody " jsem vypracovala 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 autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11.04.2019

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Pavlu Švehlovi, Ph.D. a Ing. Pavlu Míchalovi, Ph.D. za odborné vedení, hodnotné rady a individuální přístup během zpracování diplomové práce a v neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a příteli za podporu a trpělivost. Výzkum realizovaný v rámci diplomové práce byl součástí aktivit spojených s řešením projektu podporovaného MZe ČR v rámci NAZV, registrační číslo projektu QK1710176. Děkujeme poskytovateli dotace za finanční podporu výzkumu.

Vliv teploty na průběh procesu ANAMMOX při čištění směsi skládkového výluhu a kalové vody

Souhrn

Skládkový výluh a kalová voda, která vzniká při odvodňování anaerobně stabilizovaného kalu, představují pro čistírny odpadních vod problém, protože obsahují vysoké koncentrace amoniakálního dusíku, který zhoršuje kvalitu vyčištěné vody na odtoku. Proces ANAMMOX (ANAerobic AMMonia OXidation) je moderní technologií, která je využívána čistírnami odpadních vod pro odstraňování dusíkatých sloučenin ze silně znečištěných odpadních vod. ANAMMOX proces běžně funguje za teplot 25-40 °C, ale to pro většinu čistíren není ekonomicky výhodné. Proto je tato práce zaměřena na využití ANAMMOX procesu za teplot 17-20 °C a na to, jak pokles teploty ovlivňuje efektivitu systému.

Pokus se realizoval v laboratorních podmínkách po dobu 368 dnů s využitím směsi skládkového výluhu a kalové vody z Biologické čistírny odpadních vod Pardubice (BČOV Pardubice) jako substrát pro ANAMMOX proces. Pro realizaci pokusu bylo zvoleno dvoufázové technologické řešení procesu ANAMMOX, kde v první fázi v sekvenčním dávkovém reaktoru (Sequencing Batch Reactor-SBR) probíhala částečná nitritace, v druhé fázi v kontinuálně průtokovém reaktoru (Completely Stirred Tank Reactor-CSTR) se směšovací aktivací probíhal samotný ANAMMOX proces. CSTR reaktor byl po celou dobu pokusu provozován za podmínek blízkých se anoxickým, s průměrnou koncentrací kyslíku 0,5 mg/l. Průměrné koncentrace ve vstupní vodě pro ANAMMOX činily pro N-amon 450 mg/l, pro N-NO₂⁻ 600 mg/l a pro N-celk 1050 mg/l. Reaktor byl provozován při teplotách od 17 do 25 °C. Teplota se snižovala postupně a spolu s vhodně nastaveným průtokem determinujícím aktuální hodnotu zatížení systému dusíkem nedošlo k inhibici procesu.

Při teplotě 17 ± 0,5 a průtoku 240 ml/d po dobu tři týdnů nedošlo při objemovém zatížení reaktoru celkovým dusíkem dosahujícím průměrně 0,05 kg/m³/d k akumulaci N-NO₂⁻ ani N-amon v odtoku. Nebyla tedy za těchto podmínek zaznamenána pozorovatelná inhibice činnosti ANAMMOX bakterií. Účinnost odstranění celkového dusíku dosahovala v této fázi provozu reaktoru 96 %, rychlost odstranění celkového dusíku se pohybovala okolo 0,04 kg/m³/d. Účinnost odstranění N-amon i N-NO₂⁻ se v této fázi pohybovala v rozmezí od 98 do 100 %.

Tím pádem byla potvrzena hypotéza, že ANAMMOX systém lze účinně provozovat za nízkých teplot, respektive za teplot 17-20 °C.

Klíčová slova: ANAMMOX proces, teplota, amoniakální dusík, skládkový výluh, kalová voda, nitritace, odstraňování dusíku

The Influence of the Temperature on the ANAMMOX Process Applied for the Treatment of Mixture of Landfill Leachate and Reject Water

Summary

Landfill leachate and reject water produced as a side product comes from the dewatering of anaerobically stabilized sludge represent a problem for wastewater treatment plants. These water types contain high concentrations of ammonium that worsens the quality of the effluent water. ANAMMOX (ANaerobic AMMonia OXidation) is a modern technology that is used by waste water treatment plants to remove nitrogen compounds from heavily polluted wastewater. The ANAMMOX process is satisfactorily operated at 25-40 ° C, but it is not economically advantageous for most treatment plants. Therefore, this thesis is focused on the use of ANAMMOX process at 17-20 ° C and on the studying how the temperature drop affects system efficiency.

The experiment was carried out in laboratory conditions for 368 days using a mixture of landfill leachate and reject water from the biological wastewater treatment plant Pardubice as a substrate for the ANAMMOX process. Two-stages technological solution of the ANAMMOX process was chosen for the realization of the experiment, in which the partial nitrification took place in the first phase in the Sequencing Batch Reactor (SBR). ANAMMOX process was realized in the second phase in the Completely Stirred Tank Reactor (CSTR) that was operated at near anoxic conditions with an average oxygen concentration of 0.5 mg/l throughout the experiment. Average concentrations in the inlet water for ANAMMOX were 450 mg/l for total ammonia nitrogen (TAN), 600 mg/l for N-NO_2^- and 1050 mg/l for N-total. The reactor was operated at temperatures from 17 to 25 °C. The temperature was reduced gradually, and the process was not inhibited, along with a suitably set flow rate determining the actual nitrogen loading rate of the system.

At a temperature of 17 ± 0.5 ° C and a flow rate of 240 ml/d for three weeks, N-NO_2^- and TAN did not accumulate in the effluent water at a reactor total nitrogen loading rate 0.05 kg/m³/d on average. Thus, no observable inhibition of ANAMMOX activity was observed under these conditions. The total nitrogen removal efficiency at this stage of reactor operation was 96%, the total nitrogen removal rate was about 0.04 kg/m³/d. The removal efficiency of TAN as well as for N-NO_2^- was at this stage ranging from 98 to 100%.

Thus, the hypothesis that the ANAMMOX system can be operated effectively at low temperatures of 17-20 °C was confirmed.

Keywords: ANAMMOX process, temperature, ammonium, landfill leachate, sludge water, nitrification, nitrogen removal

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíl práce	2
3	Literární rešerše	3
3.2	Koloběh dusíku v přírodě	3
3.2.1	Amoniakální dusík ve vodním prostředí	4
3.2.2	Obsah amoniakálního dusíku v různých typech odpadních vod.....	5
3.3	Skládkový výluh	5
3.4	Kalové hospodářství.....	6
3.5	Systém nitrifikace/denitrifikace	8
3.6	ANAMMOX proces	8
3.6.1	ANAMMOX bakterie	9
3.6.2	Způsoby kultivace biomasy mikroorganismů pro ANAMMOX proces	10
3.6.3	Funkce systémů využívajících pro ANAMMOX proces granulovaného kalu	11
3.7	Technologické provedení reaktorů	11
3.7.1	SBR reaktory	11
3.7.2	CSTR reaktory	12
3.8	Průběh ANAMMOX procesu za nízkých teplot	12
3.9	Stabilita procesu ANAMMOX za nízkých teplot	14
3.10	Inovativní podpora průběhu procesu ANAMMOX za nízkých teplot	16
3.11	Využití procesu ANAMMOX pro čištění skládkového výluhu	17
4	Metodika.....	18
4.1	Založení pokusu	18
4.2	Charakteristika vstupní odpadní vody	20
4.3	Stanovení základních chemicko-fyzikálních vlastností	21
4.4	Analytické metody stanovení jednotlivých parametrů	21
4.5	Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným	21
4.6	Stanovení koncentrace amoniakálního dusíku	22
4.7	Stanovení koncentrace dusitanového dusíku	22
4.8	Stanovení koncentrace dusičnanového dusíku	22
4.9	Stanovení veškerých, rozpuštěných a nerozpuštěných látek, stanovení ztráty žíhaním	22
4.10	Základní výpočty	23
5	Výsledky.....	24
5.1	Teplota	24

5.2	Hodnoty pH	24
5.3	Koncentrace O_2	25
5.4	Hydraulická doba zdržení	26
5.4.1	Objemové zatížení reaktoru	27
5.5	Vstupní a výstupní koncentrace N-amon	28
5.6	Vstupní a výstupní koncentrace $N-NO_2^-$	29
5.7	Vstupní a výstupní koncentrace $N-NO_3^-$	29
5.8	Koncentrace celkového dusíku	30
5.9	Účinnost odstranění jednotlivých forem dusíku	33
5.10	Objemová rychlost odstranění	34
6	Diskuze.....	35
6.1	Vliv změn teplot na průběh procesu	35
6.2	Průběh odstranění N-amon	35
6.3	Odstranění $N-NO_2^-$ a produkce $N-NO_3^-$	37
6.4	Vliv koncentrace O_2 na průběh procesu.....	38
6.5	Vliv hodnot pH na průběh procesu	39
7	Závěr	40
8	Seznam literatury	41

1 Úvod

Při čištění odpadních vod je kladen velký důraz na odstraňování sloučenin dusíku, jelikož působí problémy ve vodním prostředí pro vodní živočichy a pro jejich přirozený habitat. Čistírny odpadních vod běžně zpracovávají splaškové vody a kalovou vodu, která vzniká při odvodňování anaerobně stabilizovaného kalu, ale některé navíc zpracovávají i skládkový výluh. Kalová voda a skládkový výluh obsahují velké množství dusíku, především amoniakálního, který zhoršuje kvalitu vyčištěné vody na odtoku z čistírny odpadních vod. Většina čistíren odpadních vod na území ČR provozuje konvenční systém nitrifikace/denitrifikace za účelem odstraňování sloučenin dusíku, avšak tento systém je méně ekonomicky výhodný při čištění skládkového výluhu a kalové vody s vyššími koncentracemi dusíku. Před několika lety byl objeven nový alternativní systém ANAMMOX (ANAerobic AMMonia OXidation), který je kombinací částečné nitritace, během které je část amoniakálního dusíku za oxických podmínek převáděna skupinou mikroorganismů označovaných jako AOB (Ammonia Oxidizing Bacteria) na dusitany, a následně za anoxických podmínek pomocí ANAMMOX bakterií zbytková část amoniakálního dusíku reaguje s dusitany za vzniku plynného dusíku a vody. Výhodou systému ANAMMOX je snížené množství kyslíku potřebného na nitrifikaci a mnohem menší spotřeba organického substrátu, který chybí v kalové vodě a skládkovém výluhu při denitrifikaci. ANAMMOX systém je citlivý na změny hodnot pH a teploty, což může značně inhibovat účinnost systému.

Cílem této diplomové práce je posoudit vliv teploty na průběh procesu ANAMMOX při zpracování směsi skládkového výluhu a kalové vody.

2 Cíl práce

Cílem práce je posoudit vliv teploty na průběh procesu ANAMMOX aplikovaného za účelem zpracování směsi skládkového výluhu a kalové vody vznikající při odvodňování anaerobně stabilizovaného kalu. Výsledky experimentů budou využity jako podklady pro budoucí realizaci systému v provozních podmínkách.

Základní hypotézou práce je předpoklad, že přestože bude rychlost procesu ANAMMOX s klesající teplotou výrazně klesat, bude v případě pozvolného poklesu teploty možno nalézt podmínky pro úspěšnou realizaci procesu i při teplotě okolo 17–20 °C.

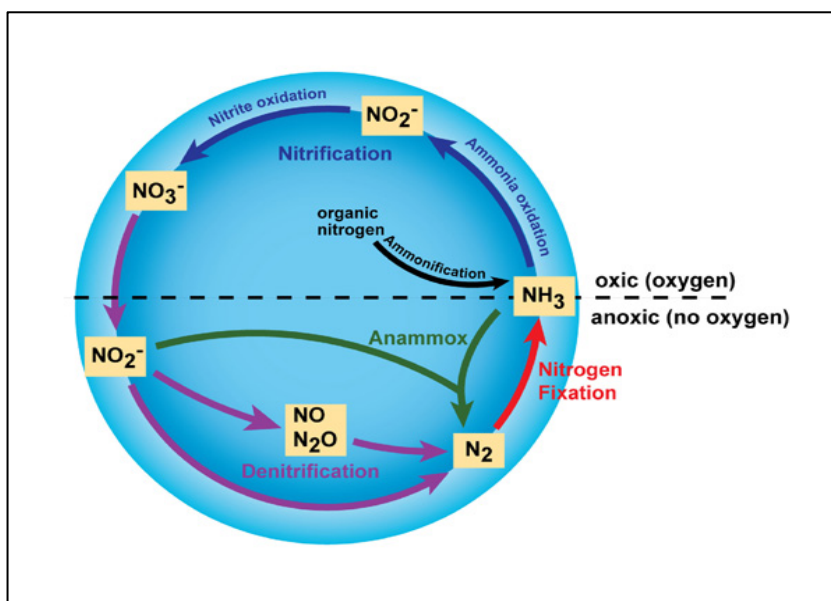
3 Literární rešerše

3.1 Sloučeniny dusíku ve vodách

Dusík a fosfor patří mezi základní makrobiogenní prvky, které jsou nezbytné pro tvorbu rostlinných a živočišných tkání. Dusík je využíván rostlinnými a živočišnými buňkami především na tvorbu příslušných proteinů. Dusík zahrnuje následující formy, které jsou přítomné v přírodních vodách: molekulární dusík (N_2) v roztoku, dusík obsažený v organických sloučeninách-zejména v bílkovinách a jejich produktech rozkladu (aminokyselinách, močovině a methylaminech), amoniakální dusík (N-amon, souhrnné označení pro $N-NH_3$ a $N-NH_4^+$), dusitany ($N-NO_2^-$) a dusičnany ($N-NO_3^-$) (Pitter 1999).

3.2 Koloběh dusíku v přírodě

Jak již bylo zmíněno, dusík je jednou z primárních živin, která je limitující pro přežití všech živých organismů. Je to nezbytná složka mnoha biomolekul, včetně bílkovin, DNA a chlorofylu. Přestože je dusík v atmosféře velmi hojný jako plyný dusík (N_2), v takové formě je málo přístupný pro většinu organismů. Proto v přírodě musí podléhat přeměnám, které lze sumárně označit jako koloběh dusíku (**Obr.1**)



Obrázek 1: Koloběh dusíku v přírodě, zdroj: Bernhard (2010)

Základní koloběh dusíku se skládá z těchto procesů:

1. Fixace dusíku volně žijícími půdními bakteriemi nebo mořskými sinicemi.
2. Nitrifikace, což je proces, který převádí amoniakální dusík na dusitany a poté na dusičnany.
Nitrifikace probíhá za aerobních podmínek ve dvou krocích, které se provádějí odlišnými typy mikroorganismů. Prvním krokem je nitritace, což je oxidace amoniakálního dusíku na dusitany. Druhým krokem je nitratace, což je oxidace dusitanů na dusičnany.
3. ANAMMOX, což je nově objevený proces, během kterého oxidace amoniakálního dusíku probíhá v anoxických podmínkách za přítomnosti dusitanového dusíku a ANAMMOX bakterií.
4. Denitrifikace, což je proces, pomocí kterého jsou dusičnany převáděny na plyný dusík, čímž se odstraní biologicky dostupný dusík a vrátí ho do atmosféry.
5. Amonifikace, ke které dochází při mineralizaci organické hmoty. Organický dusík je mineralizací převáděn na anorganický dusík, který je vrácen zpět do ekosystému jako amoniakální dusík. Amoniakální dusík se pak stává dostupným pro příjem rostlin a dalších organismů pro růst (Bernhard 2010).

3.2.1 Amoniakální dusík ve vodním prostředí

Termín amoniakální dusík se týká dvou chemických forem, které jsou v rovnováze ve vodě (NH_3 – neionizovaná forma a NH_4^+ - ionizovaná forma). Toxicita je převážně u neionizované formy (NH_3), na rozdíl od ionizované formy (NH_4^+), která je méně toxická. Při vyšší hodnotě pH a vyšší teplotě se vyskytuje více NH_3 , což způsobuje větší toxicitu.

Při rozpuštění ve vodě reaguje neionizovaná forma amoniakálního dusíku (NH_3) v závislosti na pH za vzniku ionizované formy (NH_4^+) dle rovnice:



Nejvíce ohroženou skupinou jsou ryby, u kterých větší koncentrace amoniaku vyvolávají strukturální změny. Navíc, ryby mohou trpět ztrátou rovnováhy, zvýšenou respirační aktivitou a srdeční frekvencí. Při extrémních koncentracích amoniaku může u ryb docházet ke kómatu a smrti. Pstruh je nejvíce náchylný k vyšším koncentracím amoniaku, kapr naopak je nejméně náchylný. Toxické koncentrace amoniaku u lidí mohou způsobit ztrátu rovnováhy, křeče, kóma a smrt (Rao 2000). Proto amoniakální dusík je jednou z hlavních sloučenin, která by měla být odstraněna z odpadních vod příslušnými čistírnami.

3.2.2 Obsah amoniakálního dusíku v různých typech odpadních vod

Odpadní vody s vysokými koncentracemi amoniakálního dusíku podléhají chemickým, fyzikálně-chemickým a biologickým metodám čištění. Důležitou roli pro použití správné metody hraje analýza nákladů a přínosů, požadavky na energii a chemické látky, obeznámenost s provozními postupy a vliv na životní prostředí.

Nicméně v praxi výběr biologické nebo fyzikálně-chemické metody je určen koncentrací amoniakálního dusíku v odpadní vodě. Různí autoři uvádějí odlišné koncentrační rozsahy amoniakálního dusíku v odpadních vodách. Podle Mulder (2003) je možno rozlišit tři koncentrační rozsahy:

1. Odpadní voda s nízkou koncentrací amoniakálního dusíku **<100 mg N-NH₄⁺/l**. V tomto rozsahu je preferován proces biologického odstanění amoniakálního dusíku vzhledem k efektivitě nákladů. Příkladem může být splašková odpadní voda.
2. Koncentrované odpadní vody s koncentracemi amoniakálního dusíku v rozmezí **100-5000 mg N-NH₄⁺/l**. Pro čištění mohou být zvolené jak biologické, tak i fyzikální metody. Typickým příkladem je kalová voda.
3. Silně koncentrované odpadní vody s koncentrací amoniakálního dusíku **>5000 mg N-NH₄⁺/l**. V tomto rozsahu jsou vhodné fyzikálně-chemické metody.

Hulle (2005) uvádí (**Tab.1**) následující koncentrací amoniakálního dusíku v různých typech odpadních vod:

Tab.1 Odpadní vody s vysokými koncentracemi dusíku (Hulle 2005)

Zdroje dusíku	Celkový dusík (mg/l)
Skládkový výluh	500-2500
Výroba škrobu	800-1100
Odpadní vody z pektinového průmyslu	1600
Odpadní voda z jatek	170-200
Odpadní vody z koželužen	130-190
Kalová voda	260-1000

3.3 Skládkový výluh

Podle Wastlake (2007) je skládkový výluh kapalinou ze skládky skládající se z tekutého podílu, včetně dešťové vody vstupující do tělesa skládky, a materiálů, které vznikají při průchodu kapaliny směrem zhora dolů skrze odpad. Kapaliny pronikají do tělesa skládky a mohou reagovat se složkami odpadu.

Skládkový výluh je bohatý na amoniakální dusík (**Tab.2**), což je výsledkem hydrolýzy a fermentace dusíkatých frakcí biologicky rozložitelných organických substrátů. Uvolňování rozpustného dusíku z komunálního tuhého odpadu do výluhu je pomalé a může pokračovat po dlouhou dobu (Kulikowska 2012).

Kromě sloučenin dusíku výluh obvykle obsahuje vysoké koncentrace organických látek, toxických sloučenin a těžkých kovů. Existuje závažné riziko úniku do podzemních vod, které je způsobeno především nevhodným geologickým materiálem pod skládkou nebo nespávně zvolenými preventivními opatřeními v rámci skládky (Kurniawan 2011).

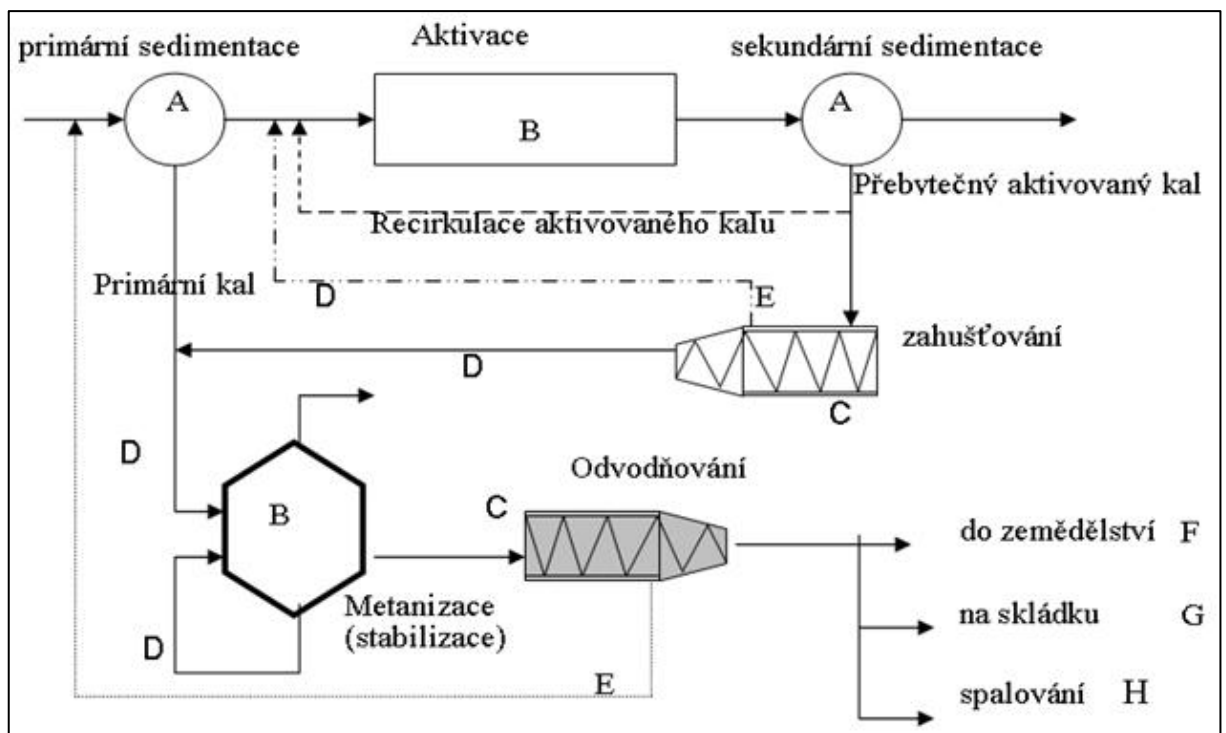
Tab.2 Složení surového skládkového výluhu (Kulikowska 2012)

Parametry výluhu	Jednotky	Hodnoty
pH	-	8.1 ± 0.14
CHSK*	mg/l	896 ± 36.8
BSK5*	mg/l	106 ± 5.26
BSK5/CHSK	-	0.11
Celkový dusík*	mg/l	834 ± 19.8
Amoniakální dusík*	mg/l	786 ± 15.2
Organický dusík*	mg/l	48 ± 6.2
Celkový fosfor*	mg/l	48.9 ± 4.6
Celkové množství rozpuštěných látek*	mg/l	6730 ± 625
Zinek*	mg/l	0.47 ± 0.06
Chrom*	mg/l	0.081 ± 0.025
Kadmium*	mg/l	0.132 ± 0.26
Nikl*	mg/l	0.03 ± 0.0013
Olovo*	mg/l	Pod detekčním limitem
Rtuť*	mg/l	Pod detekčním limitem

3.4 Kalové hospodářství

Kalové hospodářství je nedílnou součástí čistíren odpadních vod. Kalové hospodářství by mělo zahrnovat jak řadu technologických postupů a splňovat požadavky, které jsou kladeny na kalové hospodářství celkově.

Základním požadavkem pro kalové hospodářství je stabilizace kalů, což je proces, při kterém se organické látky postupně mění na anorganické nebo pomalu rozložitelné organické sloučeniny, čímž bude výrazně snížena nejen biologická rozložitelnost kalů, ale i množství patogenních mikroorganismů v něm obsažených. Obvyklou součástí kalového hospodářství je odvodnění anaerobně stabilizovaného kalu. Schéma zpracování a odvodnění kalu naznačuje **Obr.2**.



Obrázek 2: Schéma zpracování a odvodnění kalu, zdroj: Raclavská (2007)

- Primární kal zahrnuje usaditelné látky ze surové odpadní vody (kal z usazovacích primárních nádrží). Kal má většinou vločkovitou strukturu a je tvořen nerozpuštěnými látkami, které prošly lapákem písku a česlemi.
- Sekundární nebo-li přebytečný kal zahrnuje přebytečnou biomasu mikroorganismů z dosazovacích nádrží. Sekundární kal má zpravidla vločkovitou strukturu. Kal z biologických filtrů se liší od kalu z aktivačních nádrží apod. Podstatný vliv na složení přebytečného kalu z biologického čištění má typ odpadních vod (Raclavská 2007).

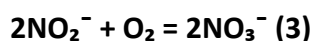
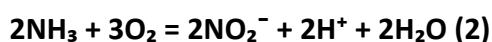
Po odvodnění anaerobně stabilizovaného kalu vzniká kalová voda. Během rozkladu organické hmoty kalu se do kalové vody uvolňuje především dusík a fosfor, přičemž dusík je obsažen především v amoniakální formě a zbylý podíl celkového dusíku tvoří organicky vázaný dusík. V závislosti na teplotě procesu, původu kalu a typu zahuštění surového kalu koncentrace celkového a amoniakálního dusíku může přesahovat 1000 mg/l (Hartig 2017). Jiní autoři uvádějí jiné koncentrační rozsahy: podle Hulle (2005) koncentrace amoniakálního dusíku v kalové vodě je v rozmezí od 260 do 1000 mg/l, další autoři jako Habart et al. (2010) uvádí koncentraci amoniakálního dusíku v kalové vodě z ústřední čistírny odpadních vod v Praze v rozmezí od 800 do 1500 mg/l. Fosfor v kalové vodě je přítomen převážně ve formě fosforečnanů.

3.5 Systém nitrifikace/denitrifikace

Nitrifikace a denitrifikace jsou základními procesy při zpracování odpadních vod. Nitrifikace je proces biologické oxidace, který přeměňuje amoniakální dusík na dusičnan.

Nitrifikace je nevratný dvoustupňový proces a každý krok mají na starosti specifické nitrifikační organismy (Wang et al. 2005). AOB (Ammonium Oxidizing Bacteria) skupina mikroorganismů, do které patří rody *Nitrosococcus*, *Nitrosospira*, *Nitrosomonas* a *Nitrosocystis*, převádí amoniakální dusík na dusitany. Další skupina mikroorganismů NOB (Nitrite Oxidizing Bacteria), do které patří rody *Nitrocystis* a *Nitrobacter*, převádí dusitany na dusičnany. K přeměně dusitanů na dusičnany obvykle dochází rychle, proto se zpravidla udržuje nízká hladina dusitanů v daném okamžiku (Ehrig 1983).

Proces nitrifikace vyplývá z chemické rovnice:



Jak je zřejmé z rovnice, první krok nitrifikačního procesu může vést ke snížení pH, což může snížit reakční rychlost nitrifikačních bakterií. Optimální pH pro proces nitrifikace je v rozmezí od 7,5 do 8,5 a optimální teplota vody je přibližně 30 °C-35 °C (Kurniawan 2011).

Denitrifikace je biologická redukce dusičnanů (NO_3^-) na plynný dusík (N_2), která probíhá za pomoci fakultativních heterotrofních bakterií rodů *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Denitrobacillus*, *Chromobacterium* za anoxických podmínek. Při denitrifikačním procesu bakterie potřebují organický substrát jako zdroj energie a jako materiál pro výstavbu vlastní buněčné hmoty. Plynný dusík (N_2) má nízkou rozpustnost ve vodě, a proto uniká do atmosféry a nepůsobí žádné velké environmentální problémy, avšak za určitých podmínek může dojít ke vzniku oxidů dusíku, což záleží převážně na hodnotách pH.

Proces denitrifikace probíhá následovně:



Hodnoty pH by pro denitrifikační procesy měly být od 6,0 do 8,0. Koncentrace rozpuštěného kyslíku by měla být nižší než 0,5 mg/l (Kurniawan 2011).

Systém nitrifikace/denitrifikace je základním systémem pro odstranění dusíkatých sloučenin z odpadních vod. Účinnost odstranění amoniakálního dusíku dosahuje až 90 %, ale i tento systém má své nevýhody jako nutnost kontroly hodnot pH, vysoké finanční a energetické nároky na aeraci a na dodání organického substrátu pro denitrifikaci, zvýšená produkce kalu, pomalu rostoucí biomasa a tvorba skleníkových plynů (CO_2 , N_2O aj.).

3.6 ANAMMOX proces

Proces ANAMMOX byl objeven před více než 20 lety. Je součástí přirozeného koloběhu dusíku v přírodě (viz kapitola 3.2). ANAMMOX bakterie byly nalezeny v různých přírodních a člověkem vytvořených ekosystémech omezených kyslíkem (Hu et al. 2013).

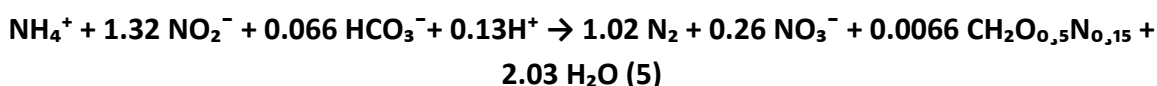
Podstata procesu je v tom, že skupina ANAMMOX bakterií převádí amoniakální dusík a dusitany přímo na plynný dusík (N_2) za anoxických podmínek.

V průběhu procesu ANAMMOX se amoniakální dusík oxiduje za anoxických podmínek, kde dusitan je akceptorem elektronů. Proces ANAMMOX musí být vždy kombinován s procesem částečné nitrifkace, při kterém je amoniakální dusík ve vhodném stechiometrickém poměru oxidován na dusitan. Oba autotrofní procesy zvýší efektivitu čištění odpadních vod, protože není potřeba do procesu přidávat organický uhlík (a souběžně se snižuje i produkce kalu). Spotřeba kyslíku a emise oxidu dusného během oxidace amoniakálního dusíku jsou zároveň značně sníženy (Jetten et al. 1998).

I přes to že ANAMMOX proces má řadu výhod, existují některé komplikace při jeho provozu. ANAMMOX bakterie mají velmi pomalý růst (doba zdvojení probíhá v rozmezí od 10 dní do 2 týdnů), což může vést k nedostatku aktivní biomasy pro čištění odpadní vody. Navíc, pokud dojde k poruchám při provozu reaktoru, čas na obnovu a návrat k normálnímu provozu je mnohem delší než u klasických systémů nitrifikace/denitrifikace. ANAMMOX bakterie jsou citlivé na změny pH a teploty (van Niftrik 2012).

Tento systém se již používá pro úpravu teplých odpadních vod vysoce znečištěných dusíkatými látkami (Hu et al. 2013).

Strous et al. (1999) odhadují stechiometrii procesu ANAMMOX podle rovnice:

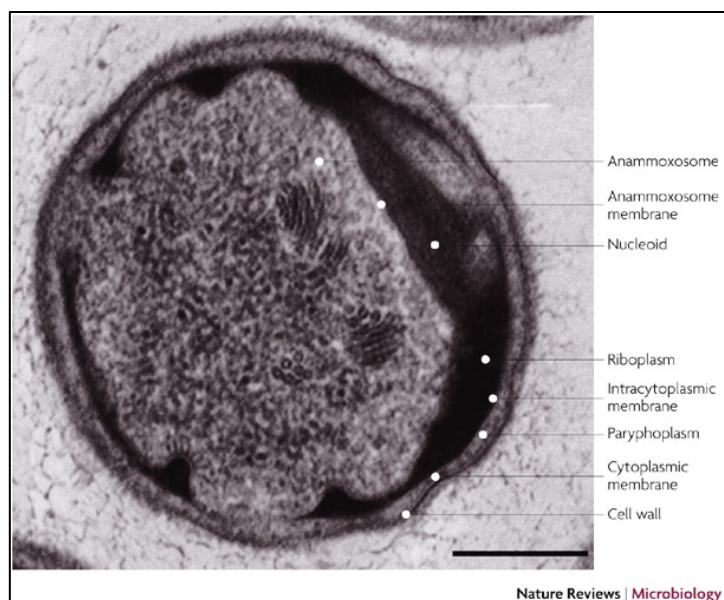


Pro testování fyziologie ANAMMOX procesu byly použity systémy SBR pracující při semikontinuálním průtoku (viz kapitola 3.7) a byla zjištěna specifická aktivita ANAMMOX procesu 1,1 g N-NH₄⁺/g proteinu/den. Koncentrace až do 1 g N/l ve formě amoniakálního dusíku nebo dusičnanů neinhibovaly aktivitu procesu ANAMMOX. Hodnoty nad 100 mg N-NO₂⁻/l (po několik dní) však tento proces potlačily. Kromě toho přidání 1,4 mg N/l hydrazinu a 0,7 mg N/l hydroxylaminu (meziprodukty procesu ANAMMOX) obnovilo metabolismus (Kurniawan 2011).

3.6.1 ANAMMOX bakterie

ANAMMOX bakterie jsou původem převážně mořskými organismy, které patří do kmene Planctomycetes. Objevují se jako součást mořské flóry, v sedimentech nebo ve sladkovodních útvech. ANAMMOX bakterie pro svoji existenci vyžadují simultánní přítomnost amoniakálního dusíku a dusitanů a anoxické podmínky. Jejich i bez toho pomalý růst může být inhibován i minimálními koncentracemi kyslíku (0,5 % z koncentrace při nasycení vody kyslíkem). ANAMMOX bakterie mají v buňkách na rozdíl od ostatních zástupců Planctomycetes samostatný specifický membránově vázaný útvar "anammoxosome" (**Obr.3**). Navíc, ANAMMOX bakterie mají neobvyklé lipidy, které obsahují ladderany-lipidy vytvořené z konkávních cyklobutanových kruhů, které tvoří tzv. molekulární žebřík. Tyto molekuly dělají membránu méně propustnou pro toxický hydrazin, který vzniká jako meziprodukt.

Ladderany byly nalezeny v souvislosti s ANAMMOX bakteriemi a mohou napomoci k identifikaci těchto organismů v jejich přirozeném nebo uměle vytvořeném prostředí (Kuenen 2008).



Obrázek 3: Stavba buňky ANAMMOX bakterie, zdroj: Kuenen (2008)

3.6.2 Způsoby kultivace biomasy mikroorganismů pro ANAMMOX proces

Existuje několik základních způsobů kultivace biomasy mikroorganismů pro ANAMMOX proces.

1. **Biofilmy** jsou společenstva jednoho nebo více typů mikroorganismů, které mohou růst na mnoha různých površích (Jefferson 2004). Biofilm, který se vyskytuje na pevném nosiči, kterým mohou být plastové kuličky, válce, textil nebo pěnové materiály je podstatou funkce **biofilmového reaktoru** (Kindaichi et al. 2007). Jedním z typů nosičů, které se používají pro kultivaci ANAMMOX bakterií, je gelový nosič (gelové kuličky nebo gelové kostky, které jsou připraveny z polyvinylalkoholu-PVA, alginátu sodného-SA, polyethylenglykolu-PEG a polyuretanu-PU). Gelové nosiče mají řadu výhod jako jsou vysoká hustota buněk mikroorganismů, odolnost buněk a snadné oddělení tuhé a kapalné fáze (Wu et al. 2018).
2. Systém využívající biomasu mikroorganismů, která je kultivována jako suspenze, se nazývá **aktivační systém** (Kartal et al. 2010).
3. Zvláštním typem kultivace je **granulovaná biomasa**. Taková biomasa tvoří pevné agregáty (granule), které navíc obsahují extracelulární polymerní látky. Na rozdíl od aktivačního systému, granulovaná biomasa je kompaktnější a má velmi dobrou usazovací schopnost. Extracelulární látky dělají granule odolnými vůči toxinům a teplotním výkyvům (Kartal et al. 2010).

3.6.3 Funkce systémů využívajících pro ANAMMOX proces granulovaného kalu

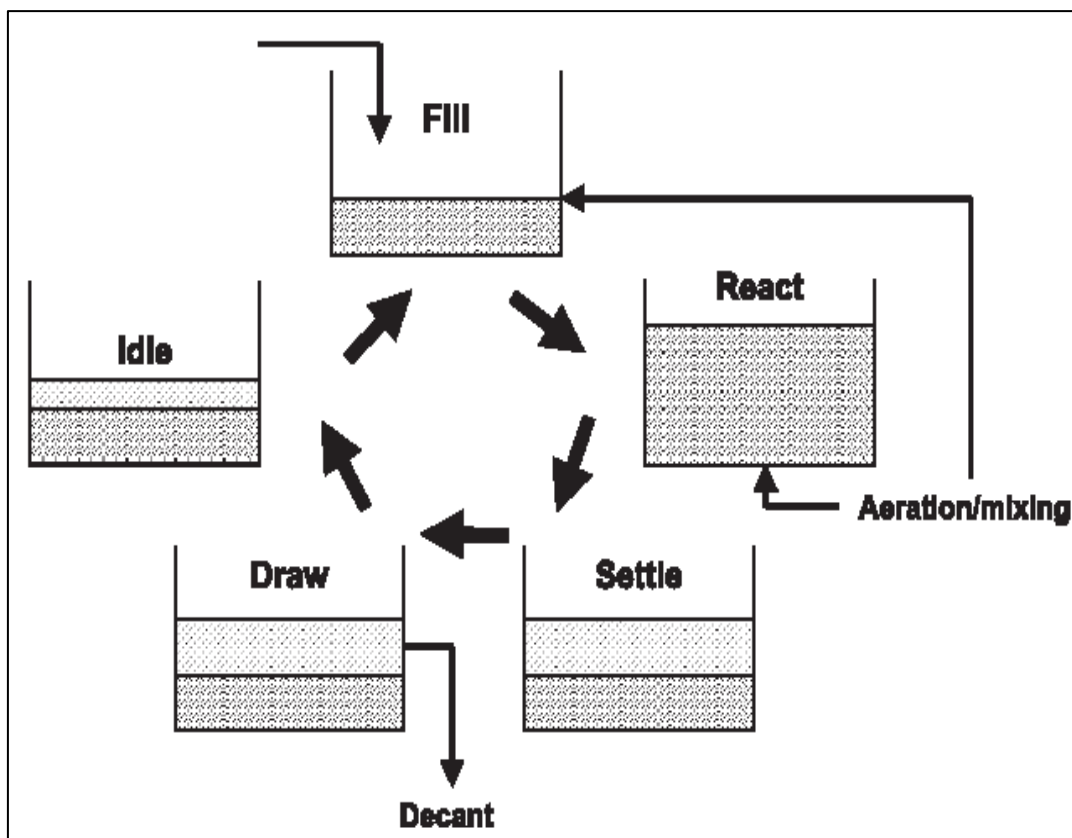
Zhu et al. (2018) provedli integrované vyšetření dokumentující vysokou početnost, aktivitu a rozmanitost ANAMMOX bakterií v reaktoru USAB (Upflow Anaerobic Sludge Blankets), který zpracovával syntetické odpadní vody s vysokou koncentrací amoniakálního dusíku. USAB reaktor pracuje na principu toho, že granulovaná biomasa tvoří kompaktní vrstvu, která suspenduje. Odpadní voda proudí přes tuto vrstvu a je zpracována ANAMMOX mikroorganismy. Ukázalo se, že optimální velikost částic granulovaného kalu, resp. granulí v ANAMMOX procesu by mohla zmírnit nežádoucí emisi N_2O . Zvýšená početnost, aktivita a specifická rychlost procesu ANAMMOX byla dosažena při optimální velikosti granulí 0,5-0,9 mm s převahou rodů *Jettenia*, *Brocadia* a *Anammoxoglobus*.

3.7 Technologické provedení reaktorů

3.7.1 SBR reaktory

SBR (Sequencing Batch Reactor) je používána pro sekvenční dávkové reaktory, které jsou modifikací aktivačního systému. Tyto reaktory jsou vhodné pro zpracování odpadní vody a často jsou modelovými reaktory pro zkoumání procesu ANAMMOX v laboratorních či poloprovozních podmínkách. Tento systém má řadu výhod jako nízké provozní náklady, vysoká efektivita odstraňování znečištění a snadná obsluha.

I když systém SBR má řadu modifikací, všechny fungují na stejném základním principu, přičemž pracovní cyklus se skládá z následujících kroků (**Obr.4**): plnění, míchání a provzdušňování, usazování, odtah vyčištěné vody a odtah přebytečného kalu. V procesu plnění odpadní voda vstupuje do reaktoru. Poté se do reaktoru přivádí vzduch pomocí jemnobublinné aerace pro zajištění aerobních podmínek za účelem odstranění BSK a převodu amoniakálního dusíku na dusičnany. Po určité době zdržení se vypne provzdušňovací zařízení a obsah nádrže se gravitačně usadí ve spodní části nádrže. Tím pádem se voda v nádrži rozdělí na horní vrstvu s vyčištěnou vodou a na dolní vrstvu s usazeným aktivovaným kalem. Následně proběhne odtah vyčištěné vody a poté i přebytečného aktivovaného kalu. Po skončení pátého kroku se systém nastartuje znovu (Kurniawan 2011).



Obrázek 4: Schéma systému SBR, zdroj: Kurniawan (2011)

3.7.2 CSTR reaktory

CSTR (Continuously Stirred Tank Reactor) je kontinuální systém s ideálním promícháváním. Vstupní odpadní voda je převedena do reaktoru odděleně od kalu. Během čištění odpadní vody dochází k promíchání a homogenizaci, což umožňuje stejné složení a stejnou koncentraci substrátu v celém objemu reaktoru (Chudoba et al. 1991). První výhodou systému CSTR je to, že má schopnost rychle nastartovat anaerobní oxidaci N-amon a to během 82 dní (Bagchi et al. 2010). Druhou výhodou je to, že je odolný vůči výkyvům pH a nárazovému zvýšení organického dusíku (Ariunbaatar et al. 2015).

3.8 Průběh ANAMMOX procesu za nízkých teplot

Optimální teploty pro průběh ANAMMOX procesu jsou v rozmezí od 25 do 40 °C (Bagchi et al. 2010). Avšak pro čistírny odpadních vod to znamená zvýšení nákladů ve spojení s použitím tepla na zahřívání reaktorů na požadovanou optimální teplotu, proto je snaha provozovat ANAMMOX systém za nízkých teplot.

Hu et al. (2013) založili pokus, během kterého zkoumali účinnost ANAMMOX procesu v souvislosti s odstraněním amoniakálního dusíku po dobu 300 dní. Za tím účelem byly v laboratoři nainstalovány 2 pětilitrové SBR reaktory pro kultivaci ANAMMOX bakterií a AOB. Biomasa z reaktoru pracujícího při 30 °C byla použita jako inokulum pro ANAMMOX SBR s částečnou nitrifikací.

Po inokulaci byl reaktor anaerobně provozován při teplotě 25 °C po dobu 2 týdnů. Vstupní substrát obsahoval 420 mg N-NO₂⁻/l a 588 mg N-amon/l při průtoku 1,8 litru za den. Během tohoto období byly ANAMMOX bakterie odpovědné za veškerou spotřebu amoniakálního dusíku a dusitanů. Pro růst AOB po 14. dnech byl do reaktoru kontinuálně přiváděn kyslík. Aby se zabránilo inhibici ANAMMOX bakterií, kyslík byl vždy dodán v množství vedoucí ke koncentraci rozpuštěného kyslíku pod detekční hranici (0,05 mg O₂/l).

V den 119 byla koncentrace amoniakálního dusíku snížena na 210 mg N/l a do reaktoru již nebyl dodáván dusitan. Po tomto bodu byl dusitanový dusík požadovaný pro ANAMMOX reakci produkován přímo v reaktoru organismy AOB.

Pro napodobení předčištěné komunální odpadní vody se zvýšenou koncentrací amoniakálního dusíku byla jeho koncentrace v den 191 snížena na 70 mg N/l a byla udržována na této hodnotě po zbytek experimentálního období.

Během pouhých 10 dní (mezi dny 125 a 136) byla teplota v reaktoru postupně snížena z 25 °C na 12 °C bez akumulace dusitanů. V den 150 byla teplota v reaktoru snížena na 9 °C, což mělo za následek postupnou akumulaci dusitanů (až 14 mg N/l). Při zvýšení teploty zpět na 12 °C v den 152 došlo ke spotřebě nahromaděného dusitanu.

ANAMMOX bakterie oxidují část dusitanu na dusičnan, což je nezbytné pro fixaci buněčného uhlíku. S klesající teplotou došlo také k poklesu produkce dusičnanů ANAMMOX bakteriemi v ANAMMOX SBR s částečnou nitritací. Pro tyto bakterie stechiometrický poměr mezi množstvím vzniklých dusičnanů a množstvím spotřebovaného N-amon činí 0,26:1. Během 68 dní před poklesem teploty byl průměrný poměr vyrobeného dusičnanu k amoniakálnímu dusíku spotřebovanému ANAMMOX bakteriemi přibližně 0,18. Nicméně pokles teploty neměl nepříznivý vliv na aktivitu AOB a ANAMMOX bakterií in situ v reaktoru což naznačuje, že tyto skupiny mikroorganismů měly nadměrnou kapacitu pro konverzi jejich substrátů. Aktivita AOB a ANAMMOX bakterií byla dostatečná k odstranění dodávaného amoniakálního dusíku, což naznačuje, že použití ANAMMOX procesu v kombinaci s částečnou nitritací při nízké teplotě a nízké koncentraci N-amon může být proveditelné.

Hu et al. (2013) předpokládají, že ANAMMOX SBR s částečnou nitritací pro odstraňování amoniakálního dusíku z předčištěných komunálních odpadních vod je možné přizpůsobit nízké teplotě při nízkém zatížení amoniakálním dusíkem velmi rychle. Laboratorní ANAMMOX SBR s částečnou nitritací pracoval více než 300 dní bez akumulace dusitanů a byl schopen odstranit více než 90 % dodaného amoniakálního dusíku při teplotách až 12 °C.

Tomaszewski et al. (2017) také studovali ANAMMOX proces za nízkých teplot, ale v souvislosti s pH. Předpokládali, že samotný vliv teploty na ANAMMOX proces byl dostatečně prostudován, ale význam pH pro aktivitu procesu ANAMMOX při nízké teplotě byl zanedbán. Dozvěděli se, že neexistuje žádná statisticky významná interakce mezi pH a teplotou. Nicméně, bylo zjištěno, že optimální rozsah pH pro vysokou aktivitu procesu ANAMMOX je 7 až 7,5 a ten se zužuje spolu s poklesem teploty, což znamená, že účinnost procesu ANAMMOX za nízkých teplot může být zlepšena odpovídající korekcí a kontrolou pH.

Gilbert et al. (2015) zkoumali, jak různé typy biomasy ovlivňují ANAMMOX proces. Pro výzkum byly použity dva SBR reaktory s aktivačním systémem a s biofilmem.

Pro simulaci realistického teplotního gradientu byly reaktory vystaveny pomalému snížení teploty (z 20 °C na 10 °C). Jako vstup byla použita syntetická odpadní voda. Ukázalo se, že reaktor s aktivačním systémem měl sníženou účinnost procesu ANAMMOX již při 15 °C. Reaktor s biofilmem měl vysokou aktivitu i při teplotách nižších než 13 °C.

3.9 Stabilita procesu ANAMMOX za nízkých teplot

Laurení et al. (2016) dlouhodobě zkoumali stabilitu procesu ANAMMOX za nízkých teplot. Provádění autotrofních anaerobních procesů oxidace amoniakálního dusíku za účelem odstraňování dusíku z komunálních odpadních vod má obrovský potenciál pro čistírny odpadních vod z pohledu úspory energie. Cílem práce bylo zhodnotit dlouhodobou stabilitu procesu ANAMMOX v kombinaci s částečnou nitritací za nízkých teplot (15 °C) a zjistit účinnost zvoleného systému při plnění koncentračních limitů pro dusík v souladu se stanovenými limity pro vypouštění (2 mg NH_4^+ /l a 10 mg N-celk/l).

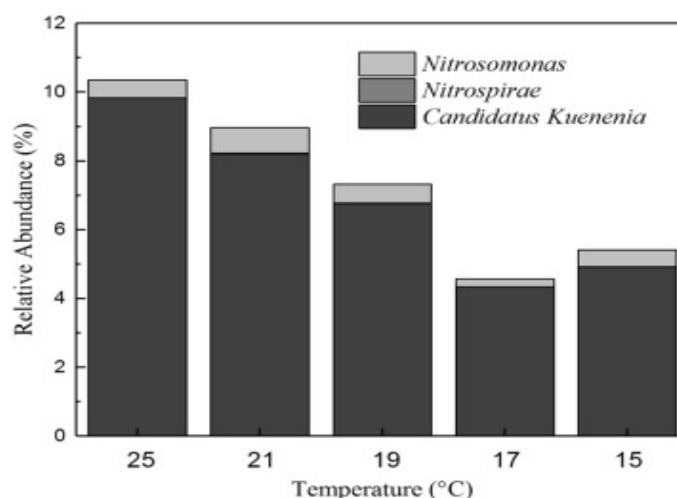
Dva SBR reaktory s aerobně předčištěnou komunální vodou z regionu Dübendorf (Švýcarsko) (21 ± 5 mg NH_4^+ /l) o objemu 12 litrů byly provozovány paralelně po dobu delší než jeden rok, včetně více než 5 měsíců při teplotě 15 °C. Jeden z reaktorů fungoval na principu biofilmu po dobu 400 dní, druhý obsahoval vločkovitou biomasou a pracoval po dobu 360 dní. Pro normální fungování systémů byly zvoleny anoxické podmínky (koncentrací kyslíku 0,15 až 0,18 mg O_2 /l), což umožnilo stabilní potlačení aktivity NOB při 15 °C.

Bylo dosaženo stabilních hodnot koncentrace amoniakálního dusíku v odtoku a celkové účinnosti odstraňování dusíku. Oba reaktory dosáhly koncentrace celkového dusíku pod 10 mg N/l ve vyčištěné odpadní vodě. Biofilmový reaktor dokonce vykazoval hodnoty 6 mg N-celk/l, přičemž koncentrace amoniakálního dusíku byla 2 mg N-amon/l. Dále oba SBR reaktory byly zkoumány s ohledem na biologické odstraňování organických mikropolutantů. Náhlé snížení teploty na 11 °C mělo za následek výrazné potlačení aktivity procesu ANAMMOX, ačkoli se tento problém rychle vyřešil po návratu teploty zpět na 15 °C. FISH (Fluorescence In Situ Hybridization) analýza ukázala, že v ANAMMOX systému s částečnou nitritací bylo zastoupeno převážně bakteriální společenstvo z rodu *Candidatus Brocadia*. Bylo prokázáno, že ANAMMOX systém s částečnou nitritací mohl konkurovat konvenčním způsobům odstraňování nutrientů, a to jak z hlediska míry odstranění, tak celkové kvality odpadních vod.

Zhang et al. (2019) se také pokusili stabilizovat ANAMMOX proces za nízkých teplot. Snížená aktivita ANAMMOX bakterií za nízkých teplot a nebezpečí zvýšeného výskytu NOB u aerobně předčištěných odpadních vod byly hlavními překážkami pro použití ANAMMOX procesu. Použitím IHSF (Intermittent High Strength Feeding) a postupným snížením teploty z 25 °C na 15 °C se stabilní provoz ANAMMOX reaktoru s granulovanou biomasou uskutečnil, přičemž k přizpůsobení na teplotu 15 °C došlo během 28 dnů od začátku experimentu. Podíl NH_4^+ ku NO_2^- ve vstupní syntetické odpadní vodě byl 1:1,22 (360 mg NH_4^+ /l ku 440 mg NO_2^- /l).

Zatížení dusíkem při 15 °C dosahovalo hodnot 1,23–1,34 kg N/m³/den a celková rychlost odstraňování dusíku při stejné teplotě dosáhla 0,71–0,98 kg N/m³/den.

Použitím IHSF došlo k nárůstu biomasy potřebné pro uskutečnění procesu ANAMMOX. Zvýšené koncentrace amoniakálního dusíku inhibovaly NOB. Výsledky FISH analýzy ukázaly, že rod *Candidatus Kuenenia* převládal v reaktoru při nízkých teplotách (**Obr.5**).



Obrázek 5: Relativní výskyt *Candidatus Kuenenia* (ANAMMOX), *Nitrosomonas* (AOB) a *Nitrospirae* (NOB) při různých teplotách, zdroj: Zhang et al. (2019)

Li et al. (2018) při zkoumání účinnosti procesu ANAMMOX za nízkých teplot dospěli k následujícím závěrům. V SBR byla studována účinnost odstanění dusíku za různých teplot při nižších hodnotách zatížení dusíkem dosahujících průměrně 0,28kg N/m³/d. Během experimentu SBR reaktor byl provozován ve třech stupních:

1. konstantní teplota 33 ± 1 °C (dny 1-30), zvýšení počtu ANAMMOX bakterií.
2. teploty blízké k provozním podmínkám čistíren odpadních vod (pokles teplot z 26 °C na 14 °C) (dny 31–80).
3. obnovení teploty 30 ± 2 °C (dny 81-114).

Výsledky ukázaly, že teplota v SBR ovlivňuje výkon odstraňování dusíku a strukturu komunity v systému ANAMMOX. Při nižších teplotách byly jak odstraňování dusíku, tak i rychlost procesu ANAMMOX nižší. Když byla teplota znovu zvýšena, aktivita procesu ANAMMOX se odpovídajícím způsobem obnovila. Když teplota klesla z 33 ± 1 °C na 15 °C, dominantní ANAMMOX bakterie v kalu se změnily z *Ca. Brocadia* na *Ca. Kuenenia*. Když se teplota vrátila, hojnost *Ca. Brocadia* se obnovila, zatímco *Ca. Kuenenia* byla stále dominantní bakterií během ANAMMOX procesu. To naznačilo, že *Ca. Kuenenia* je přizpůsobivější prostředí s nízkou teplotou než *Ca. Brocadia* při nižším zatížení dusíkem.

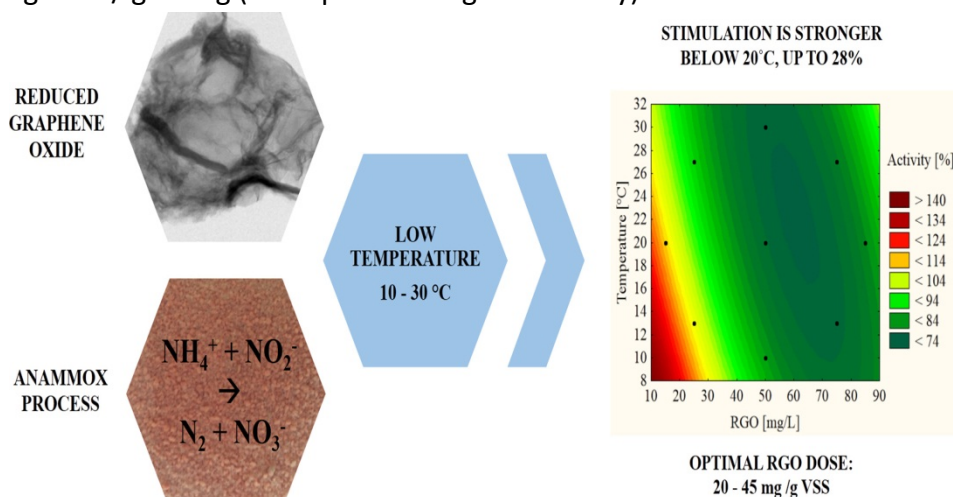
3.10 Inovativní podpora průběhu procesu ANAMMOX za nízkých teplot

ANAMMOX je účinný proces odstraňování dusíku z odpadních vod, ale jeho běžné využití je omezeno relativně vysokou optimální teplotou (cca 30 °C). Jednou z hlavních překážek ošetření odpadních vod pomocí ANAMMOX systému s částečnou nitrifikací je nízká aktivita ANAMMOX bakterií při nízkých teplotách.

Z tohoto důvodu se v uplynulých letech řada výzkumníků, včetně Tomaszewski et al. (2019), pokoušela překonat toto omezení. Nedávno bylo prokázáno, že redukováný oxid grafenu (RGO) může urychlit aktivitu anammox bakterií.

Grafen byl poprvé připraven v roce 2003 týmem André Geima a Konstantina Novoselovova na Univerzitě v Manchesteru. Základní molekula má dva atomy uhlíku a obecně se jedná o monovrstvu grafitu v níž je uhlík poskládán do pravidelných šestiúhelníků (Geim et al. 2010). Grafen má velmi zajímavou pásovou strukturu, která souvisí s citlivostí na magnetické pole, mobilitou náboje, vysokou absorpcí světla a tepelnou vodivostí (Avouris et al. 2012).

Tomaszewski et al. (2019) poprvé zkoumali vliv teploty (10-30 °C) na proces ANAMMOX pomocí RGO (**Obr.6**). Stimulační účinek RGO na bakteriální aktivitu ANAMMOX procesu je zvláště důležitý při nízkých teplotách (pod 15 °C), když je pozorován drastický pokles aktivity. Krátkodobé experimentální výsledky prokázaly stimulaci bakteriální aktivity ANAMMOX procesu při 13 °C až 28 % při 15 mg RGO/l, ale koncentrace nad 40 mg RGO/l způsobily inhibici procesu, až 30 % s 50 mg RGO/l. Účinek RGO však pravděpodobně závisí na dávce RGO na jednotkové množství biomasy a optimální rozsah této hodnoty byl hodnocen jako 20 až 45 mg RGO / g NLong (nerozpuštěné organické látky).



Obrázek 6: Diagram působení teploty a RGO na aktivitu anammox (% ve vztahu k kontrole bez přídatku RGO), zdroj: Tomaszewski et al. (2019)

3.11 Využití procesu ANAMMOX pro čištění skládkového výluhu

Cílem výzkumu Wang et al. (2018) bylo zhodnotit proveditelnost souběžné částečné nitrifikace, procesu ANAMMOX a denitrifikace pro zpracování skládkového výluhu za nízkých teplot. Za tímto účelem byly laboratorní bioreaktory přizpůsobeny postupně se snižující teplotě po dobu 370 dní (období I) a jako vstup byla použita syntetická odpadní voda s vyšší koncentrací amoniakálního dusíku. Následně byly reaktory byly přizpůsobeny surovému skládkovému výluhu po dobu 86 dnů (období II). Maximální rychlost odstraňování dusíku 218,9, 211,9, 201,1 a 146,9 g N/m³/den byla dosažena při teplotě 30 °C, 20 °C, 15 °C a 10 °C během období I (kombinace procesu ANAMMOX s částečnou nitrifikací).

Bioreaktor se souběžnou částečnou nitrifikací, procesem ANAMMOX a s denitrifikací se dále ukázal jako vhodný pro dlouhodobé zpracování zředěného skládkového výluhu při teplotě pod 15 °C (období II) se současným odbouráváním dusíku (207,9 g N/ m³/den). Výzkum představuje perspektivní pohled na odstanění dusíku ze skládkového výluhu za nízkých teplot.

Podle Miao et al. (2018) v případě aplikace biofilmových reaktorů pro proces ANAMMOX (viz kapitola 3.9) také hodně záleží na složení biofilmu. Biofilmový systém je přínosný pro ANAMMOX proces určený k úpravě skládkového výluhu. Bylo analyzováno složení extracelulárních polymerních organických látek (EPS) a mikrobiální komunity v biofilmu, aby se zjistily vlastnosti, které podporují účinnost biofilmu v procesu ANAMMOX při zpracování výluhu ze skládky. Výsledky ukázaly, že zvýšení hodnoty CHSK ve zpracovávané vodě by mohlo stimulovat výrobu EPS. EPS jsou důležité pro ANAMMOX bakterie, jelikož jim dodávají živiny a enzymy, a to zvyšuje účinnost odstranění dusíku. V testovaném biofilmovém reaktoru (viz podkapitola 3.6.2) byl rod *Candidatus Kuenenia* dominantní mezi rody bakterií odpovědných za ANAMMOX proces.

To je patrně způsobeno vysokou afinitou k substrátu u tohoto rodu, přizpůsobením se skládkovému výluhu a technologickým podmínkám panujícím v reaktoru u tohoto rodu. Zastoupení *Candidatus Kuenenia* v biofilmu vzrostlo z 3,26 % na 12,38 % ze všech přítomných mikroorganismů.

4 Metodika

4.1 Založení pokusu

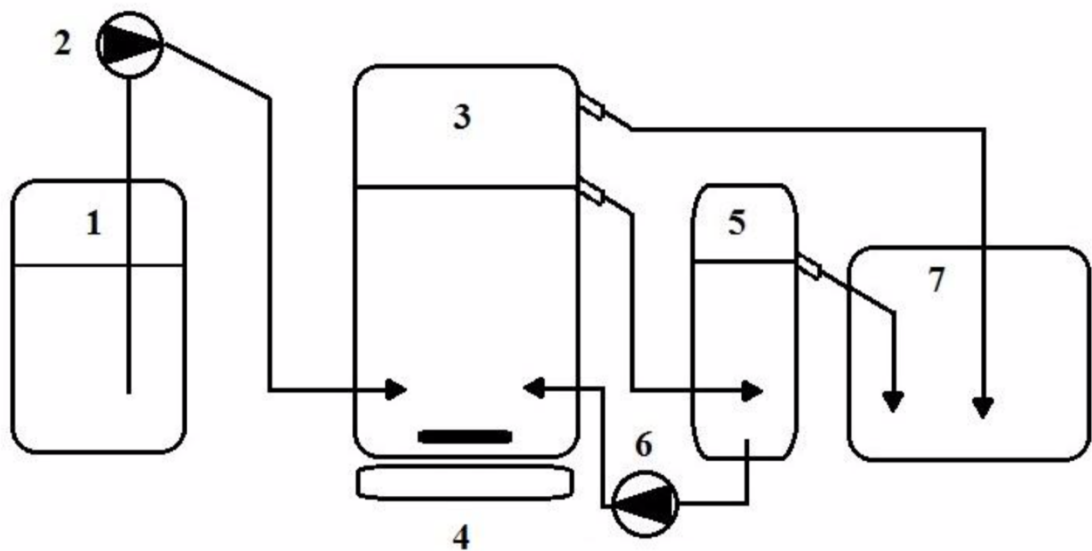
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin od roku 2015 provozuje pokus, který je zaměřen na sledování ANAMMOX procesu, konkrétně na průběh procesu za nízkých teplot. Tato práce zahrnuje období od 22. 02. 2018 do 14. 03. 2019. První den výzkumu v této práci je označen jako den 1. a poslední den jako den 368. ANAMMOX bakterie použité ve výzkumu pocházejí z inokula z estonské univerzity v Tartu, kde byly původně kultivovány v režimu SBR. Pro realizaci pokusu bylo zvoleno dvoufázové technologické řešení procesu ANAMMOX. V první fázi v samostatném SBR reaktoru (**Obr.7**) (viz podkapitola 3.7.1) probíhala částečná nitrifikace a jako vstup byla použita směs kalové vody a skládkového výluhu z Biologické čistírny odpadních vod Pardubice (viz kapitola 4.2).



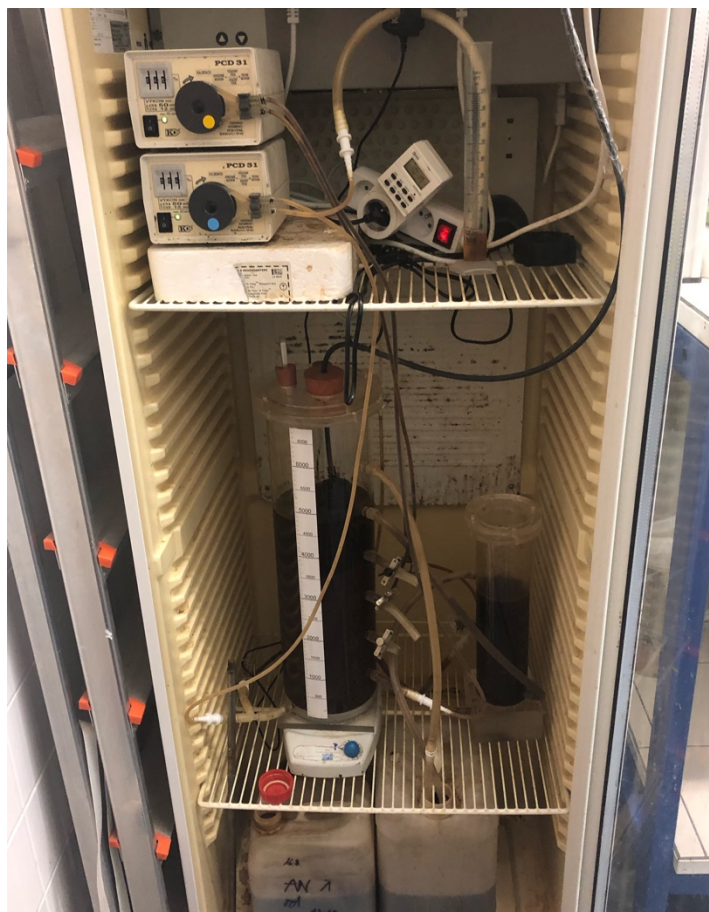
Obrázek 7: Fotografie laboratorní aplikace modelu SBR

Výstup z SBR reaktoru, ve kterém byl přidavkem adekvátního množství NH_4Cl upraven koncentrační poměr N-NO_2^- a N-amon na hodnotu blízkou stechiometrii anammox procesu (viz rovnice 5, kapitola 3.6) byl použit jako vstupní voda pro ANAMMOX systém, který se realizoval v pětilitrovém CSTR reaktoru (viz podkapitola 3.7.2) se směšovací aktivací.

Schéma laboratorního modelu je představeno na **Obr.8**, fotografie modelu je na **Obr.9**. CSTR model se skládal z následujících částí: 1) kanystr se vstupní odpadní vodou z odtoku z SBR reaktoru, 2) peristaltické čerpadlo, pomocí kterého vstupní voda byla přiváděna do 3) reaktoru, 4) magnetické míchadlo pro optimální promíchávání a udržení kalu ve vznosu, 5) dosazovací nádrž, kam samospádem byla odváděna výstupní voda z reaktoru, 6) výstup ve spodní části dosazovací nádrže s peristaltickým čerpadlem, pomocí kterého kal byl recyklován zpět do reaktoru, 7) kanystr s vyčištěnou vodou. Dosazovací nádrž byla provzdušňována každé tři hodiny po dobu jedné minuty, aby nedošlo k ucpání recirkulačního oběhu. Reaktor a dosazovací nádrž byly uzavřeny poklopem, aby byly zajištěny anoxické podmínky. CSTR reaktor byl umístěn do termostátové skříně s nastavitelnou teplotou.



Obrázek 8: Schéma laboratorního modelu CSTR reaktoru, zdroj: Schovánek (2017)



Obrázek 9: Fotografie laboratorní aplikace modelu CSTR

4.2 Charakteristika vstupní odpadní vody

Vstupní odpadní voda pro realizaci pokusu byla pořízena z BČOV Pardubice. Jako substrát pro SBR reaktor byla použita směs kalové vody a skládkového výluhu v objemovém poměru 3:1. Parametry kalové vody a skládkového výluhu jsou uvedeny v **Tab.3** a **Tab.4**.

Požadovaný poměr koncentrací N-NO_2^- ku N-amon ve výstupu z SBR reaktoru, který simuloval částečnou nitritaci byl 1,32:1. Vhodné koncentrace dusitanů bylo dosaženo přidavkem chloridu amonného. Vstupní koncentrace dusičnanů ani dusitanů nebyla upravována.

Tab.3: Charakteristiky kalové vody

pH	KNK 4,5 (mmol/l)	KNK 6,5 (mmol/l)	P celk. (mg/l)	N- amon (mg/l)	CHSK		Sušina	
					homog. (mg/l)	odstř. (mg/l)	Nerozpuštěné látky (g/l)	Nerozpuštěné látky org. (g/l)
7,98	40	32	116	516	1030	890	0,244	0,179

Tab.4: Charakteristiky skládkového výluhu

pH	KNK 4,5 (mmol/l)	KNK 6,5 (mmol/l)	P celk. (mg/l)	N- amon (mg/l)	CHSK		Sušina	
					homog. (mg/l)	odstř. (mg/l)	Nerozpuštěn é látky (g/l)	Nerozpuštěné látky org. (g/l)
8,25	163	144	57	1170	5560	4980	0,351	0,125

4.3 Stanovení základních chemicko-fyzikálních vlastností

Během výzkumu byla vždy jednou týdně sledována teplota v reaktoru pomocí laboratorního teploměru členěného po 0,5 °C, pak byla sledována hodnota pH pomocí přenosného pH-metru WTW pH 340i s elektrodou WTW SenTix 21 a koncentrace kyslíku pomocí přenosného oxi-metru WTW Oxi 340i s elektrodou Cellox 325. Výrobce uvádí že přesnost měření v případě pH je $\pm 0,01$ pH a při měření kyslíku je $\pm 0,5$ % z koncentrace při nasycení kyslíkem. Jednou týdně se měřily hodnoty CHSK a koncentrace N-amon, N-NO_2^- , N-NO_3^- jak na vstupu, tak i na výstupu z reaktoru. Každý týden byl změřen průtok a jednou za čtyři týdny byly v hliníkových mističkách stanovovány veškeré, rozpuštěné a nerozpuštěné látky a ztráta žiháním.

4.4 Analytické metody stanovení jednotlivých parametrů

Vzorky vstupní a výstupní vody byly odstředěny v plastových ampulích po dobu 12 minut při 9500 otáčkách za minutu v odstředivce Hettlich-Rotina 420. Vzorky byly ředěny v 50 ml odměrných baňkách přidáním demineralizované vody, aby bylo dosaženo koncentrací, při kterých spektrofotometr HACH DR/4000 byl schopen stanovit jednotlivé parametry. Vyhodnocení bylo prováděno spektrofotometrem automaticky na základě předprogramovaných metod vycházejících z Lambert-Beerova zákona a kalibračních křivek. Jednotlivá stanovení probíhala v souladu s vybranými kapitoly z Horákové et al. (2003).

4.5 Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným

Chemická spotřeba kyslíku (CHSK) byla stanovena pomocí semimikrometody podle Horákové (2003). Organické látky ve vzorku byly oxidovány dichromanem draselným v roztoku okyseleném kyselinou sírovou. Roztok navíc obsahoval síran rtuťnatý pro maskování chloridů. Katalyzátorem oxidace byly stříbrné ionty. Měření probíhalo ve vhodných zkumavkách se závitem po dobu dvou hodin při 150 °C v mineralizačním boxu HACH DRB 200 při vlnové délce $\lambda = 600$ nm. Stanovovala se koncentrace vzniklých chromitých iontů.

4.6 Stanovení koncentrace amoniakálního dusíku

Spektrofotometrické stanovení amoniakálního dusíku je založeno na reakci amoniaku, chlornanu a salicylanu za vzniku intenzivně modré sloučeniny indofenolového typu. Reakce probíhá v alkalickém prostředí a je katalyzována nitroprusidem sodným. Vzniklá modrá sloučenina je vhodná pro spektrofotometrické stanovení. Roztok indofenolového barviva má modré zbarvení, ale roztok nitroprusidu má žluté zbarvení, proto opticky má roztok zelenou barvu. Samotné stanovení trvalo jednu hodinu po přidání činidel ve skleněných kyvetách o průměru 1 cm a vlnové délce $\lambda = 655 \text{ nm}$ (Horáková a Ptáková 2003).

4.7 Stanovení koncentrace dusitanového dusíku

Stanovení dusitanového dusíku probíhalo pomocí spektrofotometru HACH DR/4000 při vlnové délce $\lambda = 540 \text{ nm}$ v jednopalcových kyvetách. Do vzorku byly společně přidány chemikálie ve formě směsného vybarvovacího činidla, které obsahovalo kyselinu fosforečnou, amid kyseliny sulfanilové a N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamin-dihydrochlorid. Po přidání chemikálií měl vzorek růzovou barvu a její intenzita určovala koncentraci dusitanů. Měření na spektrofotometru probíhalo po 20 minutách od přidavku činidel.

4.8 Stanovení koncentrace dusičnanového dusíku

Spektrofotometrické stanovení dusičnanového dusíku probíhalo pomocí spektrofotometru HACH DR/4000 při vlnové délce $\lambda = 324 \text{ nm}$ ve zkumavkách o průměru 16 mm. Dusičnanový dusík reagoval s 2, 6 - dimethylfenolem v prostředí silně koncentrované kyseliny sírové a kyseliny dusičné za vzniku červeného 4 - nitro - 2, 6 - dimethylfenolu. Eliminaci rušivého vlivu dusitanového dusíku zajišťovalo přidání kyseliny amidosírové před aplikací ostatních činidel. Měření probíhalo po 10 minutách od přidání všech činidel (Horáková a Ptáková 2003).

4.9 Stanovení veškerých, rozpuštěných a nerozpuštěných látek, stanovení ztráty žíhaním

Vzorky pro analýzy byly odebrány jak ze vstupu, tak i z výstupu a přímo v reaktoru. Do předem zvážených na analytických vahách Denver Instruments SI 234 předem zvážených hliníkových mističek se převedlo 10 ml každého neodstředěného vzorku a do dalších hliníkových mističek se převedlo 10 ml každého odstředěného vzorku. Následně se na zahřáté plotýnce P-LAB CB 500 na vodní lázni odpařila přebytečná voda. Poté byly vzorky vysušeny v sušárně BMT Ecocell při $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 2 hodin do konstantní hmotnosti. Dále byly ze sušárny přeloženy do exsíkátoru a po vyrovnání teplot znovu zváženy. Pak se hliníkové mističky umístily do muflové pece na 1 hodinu při $550 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Po ochlazení a vyrovnání teplot v exsíkátoru se mističky opět zvážily (Kollerová 2003).

4.10 Základní výpočty

Základní výpočty hydraulické doby zdržení, objemového zatížení, účinnosti odstranění znečišťujících látek a objemové rychlosti odstranění znečišťujících složek byly spočítány dle rovnic uvedených v Chudoba et al. (1991). V této práci pro výpočty a tvorbu grafů byl použit software Microsoft Excel 2005.

Hydraulická doba zdržení (h)

$$\theta_1 = \frac{V}{Q_1}$$

V = objem nádrže (l)

Q₁ = přítok odpadní vody (l/h)

Objemové zatížení (kg/m³/d)

$$BV = \frac{Q_1 \times C_1}{V}$$

Q₁ = přítok odpadní vody (m³/d)

C₁ = koncentrace látky ve vstupní vodě (kg/m³)

V = objem nádrže (m³)

Účinnost odstranění znečišťujících látek (%)

$$E = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100$$

C₁ = koncentrace látky ve vstupní vodě (kg/m³)

C₂ = koncentrace odtokového znečištění ve vodě (kg/m³)

Objemová rychlost odstranění (kg/m³/d)

$$r_v = \frac{Q_1 \times (C_1 - C_2)}{V}$$

Q₁ = přítok odpadní vody (m³/d)

C₁ = koncentrace látky ve vstupní vodě (kg/m³)

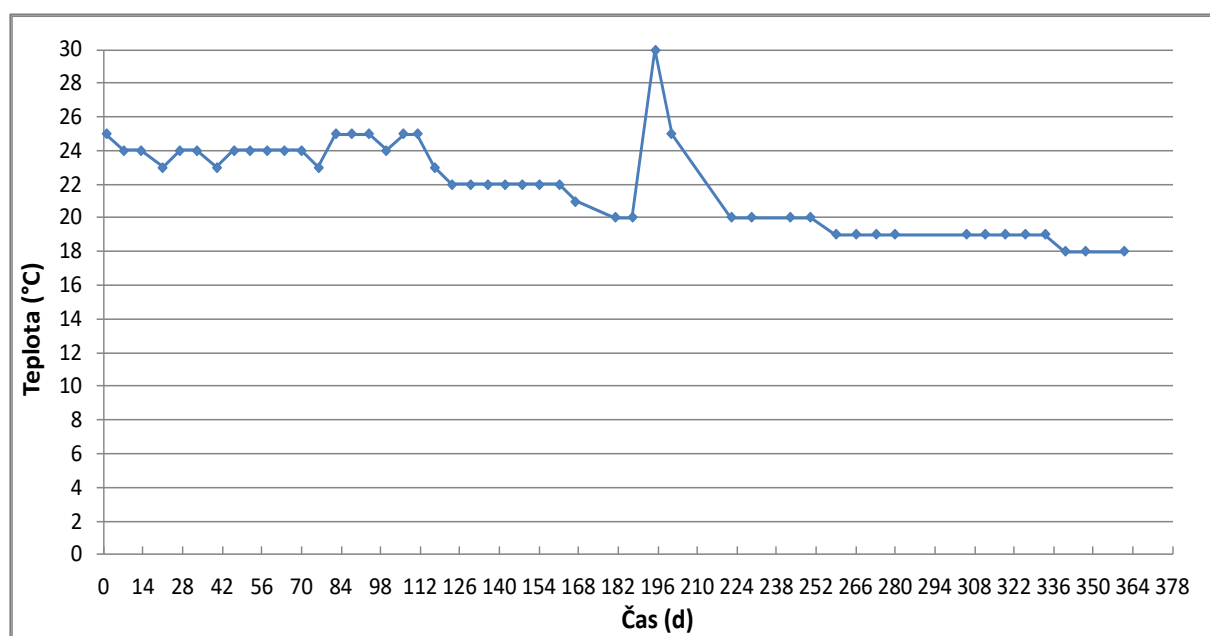
C₂ = koncentrace odtokového znečištění ve vodě (kg/m³)

V = objem nádrže (m³)

5 Výsledky

5.1 Teplota

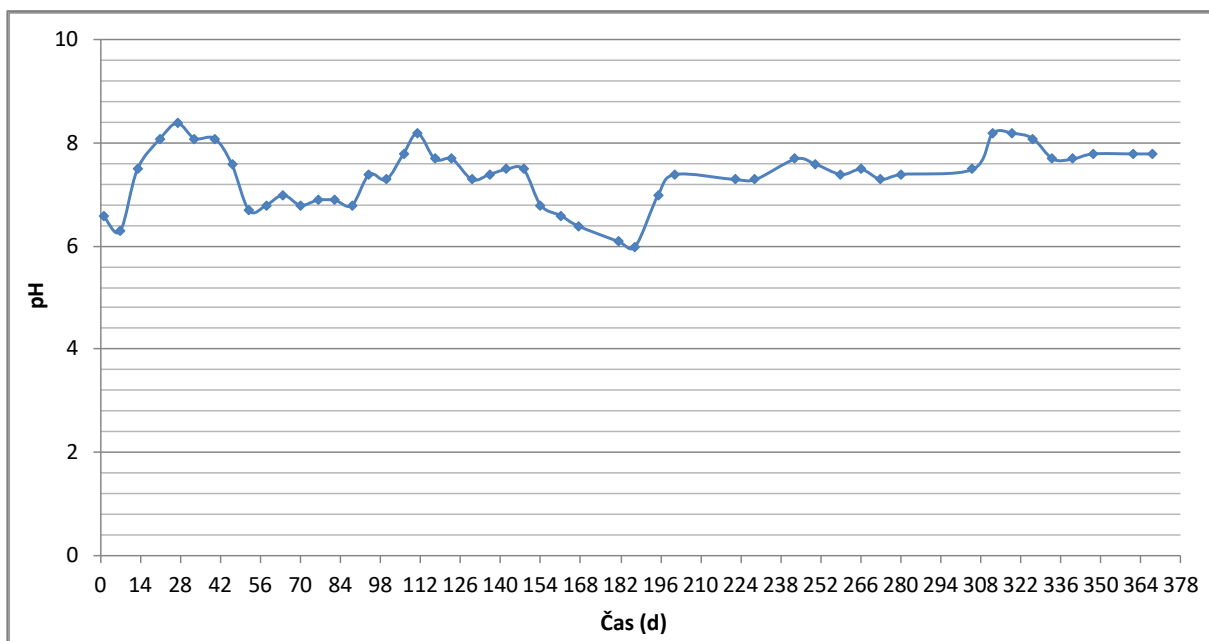
Teplota v ANAMMOX reaktoru se nastavovala změnou hodnot v termostátové skříni, ale skutečná teplota v reaktoru byla vždy přibližně o 1 °C nižší. I když teplota byla pevně nastavena, docházelo k jejím výkyvům $\pm 0,5$ °C. Během první poloviny pokusu (1. – 161. den měření) se teplota v reaktoru pohybovala v rozmezí od 22 °C do 25 °C. 167. dne měření došlo k poklesu teploty o 1 °C a reaktor pracoval za teploty 21 °C. 196. dne došlo ke kolapsu procesu a teplota byla zvýšena na 30 °C. 201. dne měření byla teplota nastavena na 25 °C. Pak od 222. do 252. dne měření byla teplota v reaktoru byla 20 °C. Od 259. do 333. dne teplota v reaktoru byla 19 °C. Od 340. dne do konce pokusu reaktor pracoval za teploty 18 °C. Změny teploty v průběhu experimentu jsou zřejmé z **Grafu 1**.



Graf 1: Vývoj teploty

5.2 Hodnoty pH

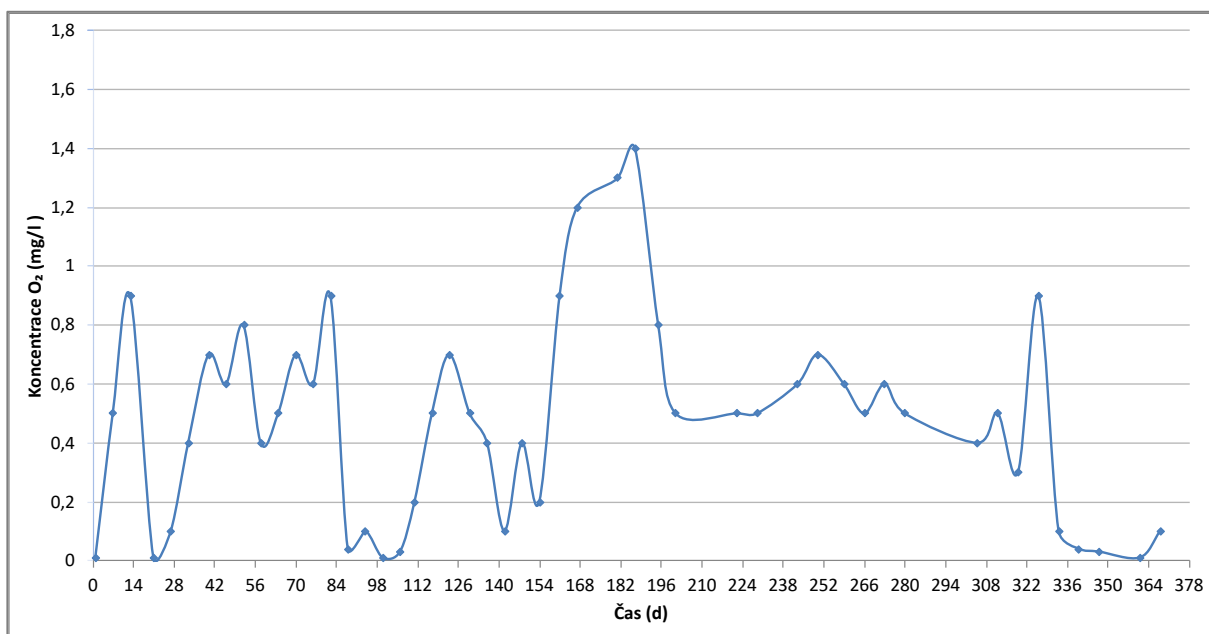
Od 1. do 28. dne měření měly hodnoty pH stoupající trend a byly v rozmezí od 6,5 do 8,5. Od 30. do 45. dne hodnoty pH postupně klesaly z 8,5 na 6,5. Od 56. do 84. dne měření nedošlo k žádným podstatnějším výkyvům a hodnoty pH byly 6,5 až 7. V období od 88. do 187. dne byly hodnoty pH v rozmezí od 6 do 7,5, přičemž 112. dne měření byla hodnota pH více než 8. Od 195. dne měření do konce pokusu měly hodnoty pH stoupající trend a byly v rozmezí od 7 do 8, během tohoto období nedošlo k žádným výrazným výkyvům. Změny pH v průběhu experimentu jsou zřejmé z **Grafu 2**.



Graf 2: Vývoj hodnoty pH

5.3 Koncentrace O_2

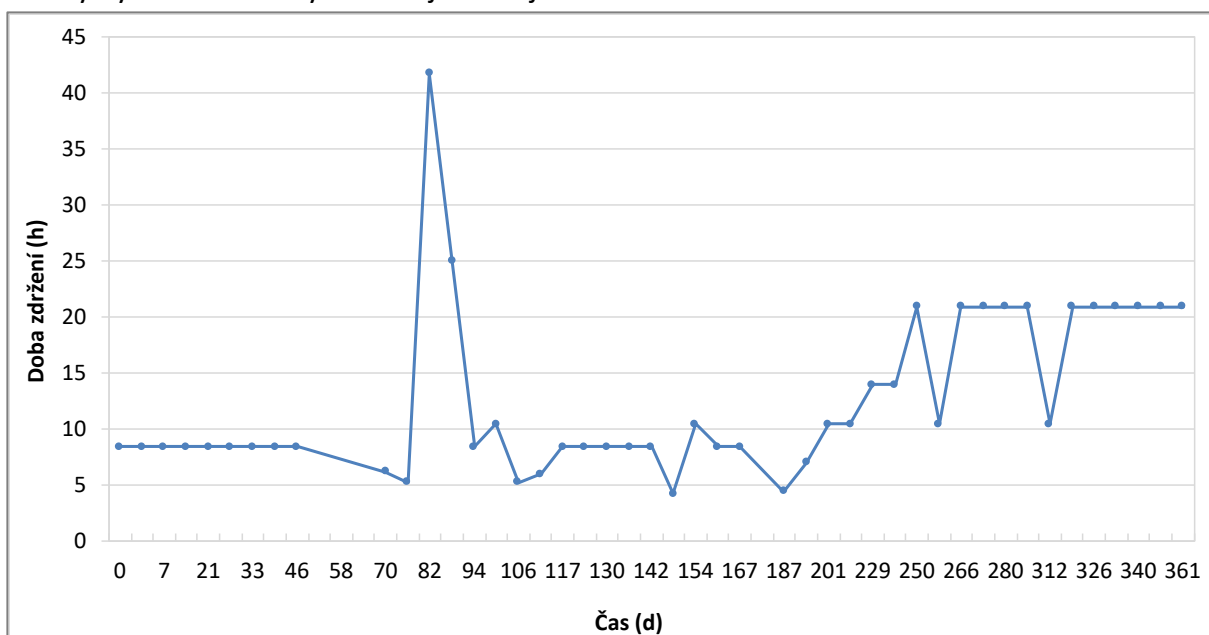
Během pokusu byla snaha držet co nejnižší koncentraci kyslíku. Od 1. do 75. dne měření koncentrace O_2 byly v rozmezí od 0,5 do 0,9 mg/l, a to s výjimkou dne 21., kdy koncentrace kyslíku byla 0,01 mg/l. Od 84. do 100. dne došlo k poklesu koncentrací kyslíku a byly v rozmezí 0,01 do 0,1 mg/l. Od 112. do 154. dne koncentrace O_2 stouply a byly v rozmezí od 0,1 mg/l do 0,7 mg/l. 161. dne došlo ke kolapsu procesu a koncentrace kyslíku se výrazně zvýšily a dosahovaly hodnot až 1,4 mg/l. Od 196. do 322. dne koncentrace O_2 byly nižší, než 0,7 mg/l. 326. dne koncentrace kyslíku byla 0,9 mg/l, ale pak od 333. dne do konce pokusu byly koncentrace v rozmezí od 0,01 mg/l do 0,05 mg/l. Jednotlivé změny koncentrace O_2 jsou zřejmé z **Grafu 3**.



Graf 3: Koncentrace O_2 během pokusu

5.4 Hydraulická doba zdržení

Hydraulická doba zdržení během prvních 46 dní měření byla 8 hodin. Od 46. do 76. dne došlo k poklesu doby zdržení a to na 5 hodin. 86. dne měření došlo k výraznému prodloužení doby zdržení a byla 42 hodiny. V období od 94. do 161. dne nedošlo k žádným výrazným výkyvům hodnot, byly v rozmezí od 5 do 10 hodin. 167. dne došlo k prodloužení doby zdržení, která byla 21 hodin. Ode dne 187 měla hydraulická doba zdržení stoupající trend, který byl v rozmezí od 5 do 21 hodin. Ode dne 250 do konce pokusu byla hydraulická doba 21 hodin a to s výjimkou dne 266 a 319, kdy hydraulická doba zdržení klesla na 11 hodin. Jednotlivé změny hydraulické doby zdržení jsou zřejmé z **Grafu 4**.



Graf 4: Změny hodnot hydraulické doby zdržení

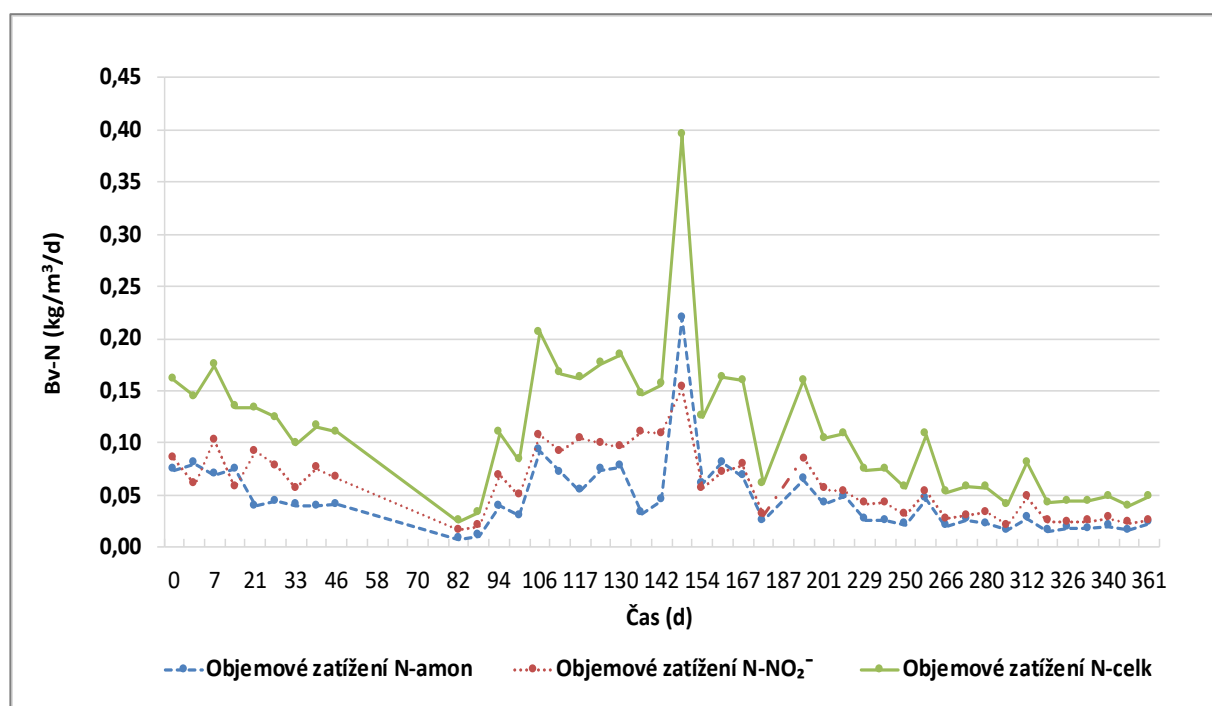
5.4.1 Objemové zatížení reaktoru

Na **Grafu 5** je zobrazeno objemové zatížení reaktoru N-celk, N-amon a N-NO_2^- . Od 1. do 82. dne měly hodnoty objemového zatížení N-celk klesající trend a byly v rozmezí od $0,03 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ do $0,18 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 88. do 106. dne hodnoty objemového zatížení stoupaly a byly v rozmezí $0,04 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ do $0,21 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 111. do 142. dne hodnoty byly stabilní a pohybovaly se od $0,15 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ do $0,20 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. 148. dne došlo k výraznému zvýšení objemového zatížení N-celk, které bylo $0,4 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 167. dne do konce pokusu objemové zatížení reaktoru N-celk postupně klesalo z $0,16 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ na $0,04 \text{ kg/m}^3/\text{d}$.

Dusitanový dusík během pokusu měl větší podíl na objemovém zatížení N-celk na rozdíl od amoniakálního dusíku, a to s výjimkou dne 148, kdy došlo k výraznému zvýšení hodnot objemového zatížení N-amon na $0,23 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Objemové zatížení N-NO_2^- od 1. do 82. dne bylo v rozmezí od $0,06 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ do $0,1 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 88. do 154. dne rozmezí objemového zatížení N-NO_2^- bylo $0,02 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ až $0,15 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 161. dne do konce pokusu objemové zatížení dusitanovým dusíkem bylo $0,03$ až $0,08 \text{ kg/m}^3/\text{d}$.

Objemové zatížení N-amon od 1. do 82. dne bylo v rozmezí od $0,01 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ do $0,08 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 88. do 154. dne bylo rozmezí objemového zatížení N-amon $0,02 \text{ kg/m}^3/\text{d}$ až $0,23 \text{ kg/m}^3/\text{d}$.

Od 161. dne do konce pokusu bylo objemové zatížení dusitanovým dusíkem $0,03$ až $0,07 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Jednotlivé změny objemového zatížení reaktoru N-celk, N-amon a N-NO_2^- jsou zřejmé z **Grafu 5**.

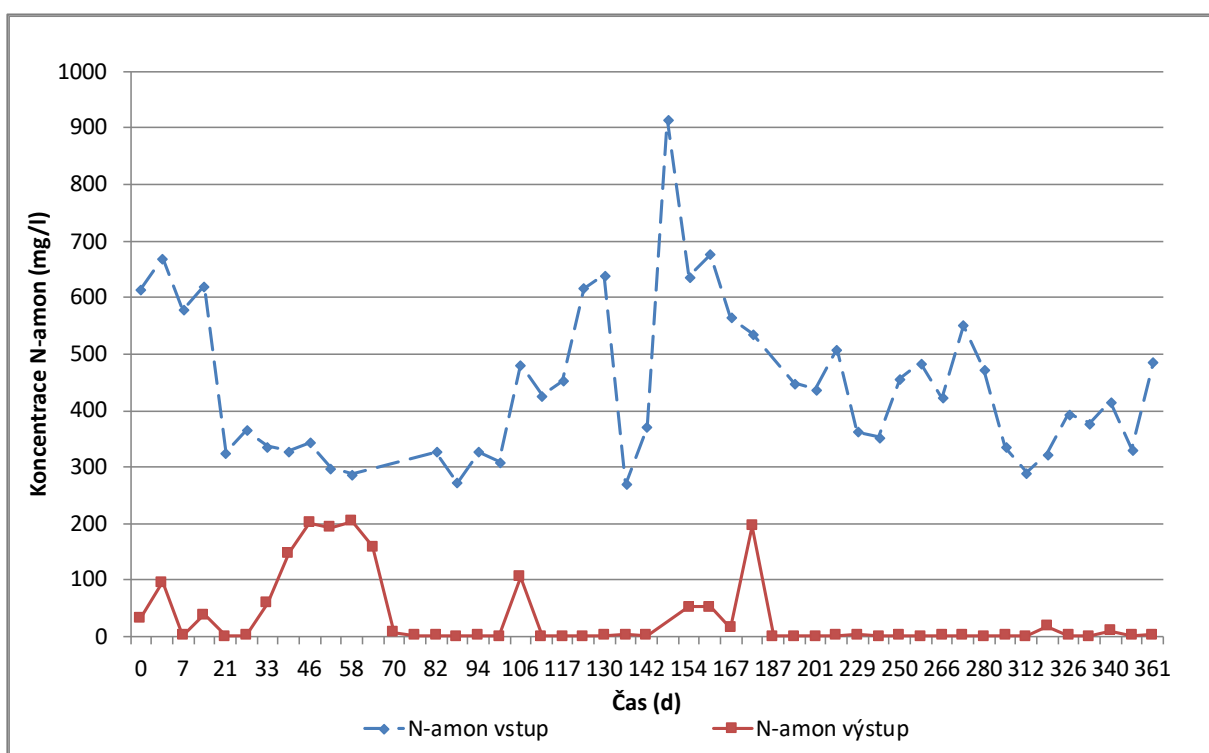


Graf 5: Objemové zatížení reaktoru N-celk, N-amon a N-NO_2^-

5.5 Vstupní a výstupní koncentrace N-amon

Vstupní koncentrace N-amon od 1. do 21. dne měření se pohybovaly od 580 do 680 mg/l. 27. dne došlo k poklesu koncentraci N-amon, a to na hodnotu 320 mg/l. Od 33. do 100. dne vstupní koncentrace amoniakálního dusíku byla v rozmezí od 290 do 390 mg/l. Od 106. do 130. dne koncentrace amoniakálního dusíku měly stoupající trend a pohybovaly se v rozmezí 300 až 630 mg/l. 136. dne měření koncentrace N-amon výrazně klesla z 630 mg/l na 280 mg/l. Od 136. do 161. dne koncentrace N-amon rapidně stoupla a to z 280 mg/l na 910 mg/l. Od 167. do 201. dne měření koncentrace N-amon pomalu klesaly z 910 mg/l na 420 mg/l. Od 222. dne do konce pokusu nebyly pozorovány žádné výrazné výkyvy ve vstupních hodnotách koncentrace N-amon a jeho koncentrační rozmezí bylo od 300 do 500 mg/l.

Amoniakální dusík na výstupu byl jedním z nejdůležitějších sledovaných parametrů. Během prvních 70 dní měření jeho hodnoty výrazně kolísaly. Tak, od 1. do 27. dne měření byly výstupní hodnoty N-amon. v průměru 35 mg/l. Od 33. dne měření hodnoty N-amon na výstupu měly stoupající trend a do 58. dne pokusu byly v rozmezí od 50 do 200 mg/l. Od 70. dne měření do konce pokusu byly koncentrace N-amon stabilní a v průměru nepřesahovaly 3 mg/l, ale na 106. den měření došlo k nárůstu koncentrace N-amon, která byla 100 mg/l. Od 142. do 187. dne došlo ke kolapsu procesu a hodnoty N-amon na výstupu měly kolísavý charakter a byly v rozmezí od 50 do 200 mg/l. Jednotlivé změny hodnot koncentrace N-amon na vstupu a na výstupu jsou zřejmé z **Grafu 6**.

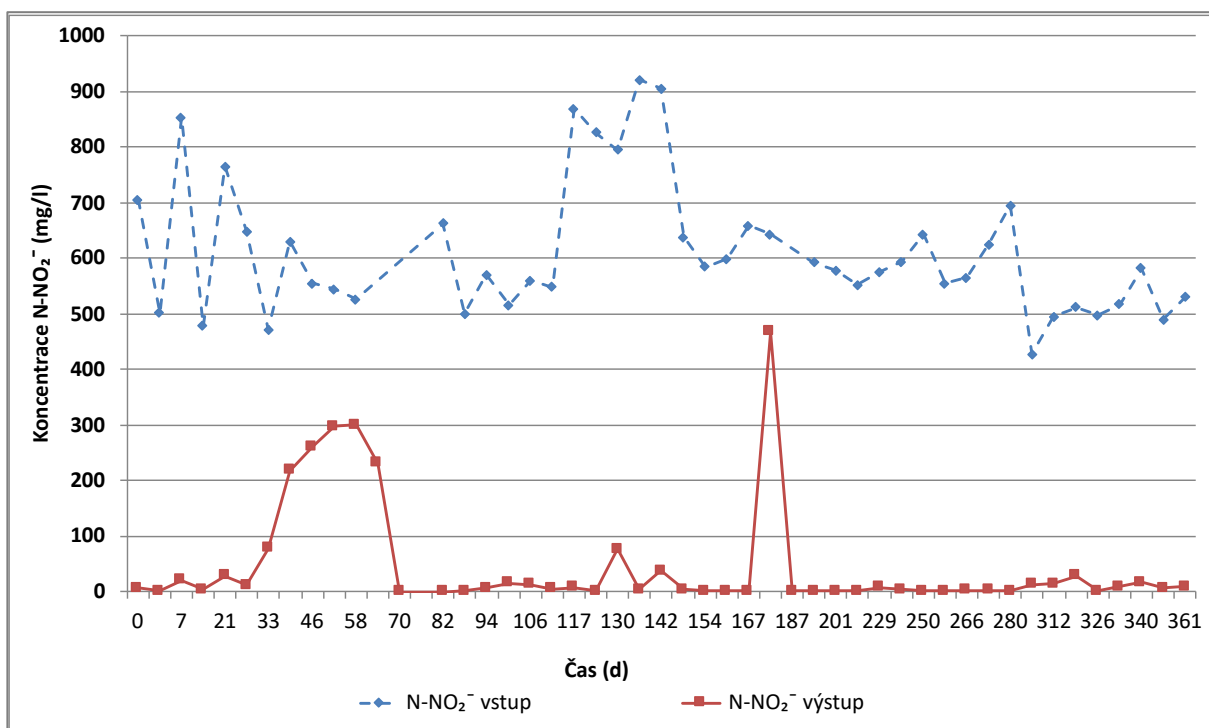


Graf 6: Vstupní a výstupní koncentrace N-amon

5.6 Vstupní a výstupní koncentrace N-NO_2^-

Vstupní koncentrace dusitanového dusíku od 1. do 40. dne pokusu měly kolísavý charakter a byly v průměru 650 mg/l. Od 46. do 106. dne pokusu byly koncentrace N-NO_2^- v rozmezí od 500 do 650 mg/l. V období od 111. do 148. dne došlo k výraznému nárůstu hodnot koncentrací, a to z 650 mg/l na 900 mg/l. Od 154. dne do konce pokusu průměrné hodnoty vstupních koncentrací N-NO_2^- byly v průměru 500 mg/l.

Průměrná koncentrace N-NO_2^- na výstupu během prvních 27 dní měření byla v průměru 12 mg/l. Od 33. dne měly hodnoty koncentrace N-NO_2^- stoupající trend a do 58. dne pokusu byly v rozmezí od 200 do 300 mg/l. Od 70. dne měření do konce pokusu hodnoty N-NO_2^- byly stabilní a v průměru nepřesahovaly 14 mg/l, ale na 130. den měření došlo k nárůstu koncentrace, která byla 100 mg/l. 181. dne došlo k výraznému zvýšení koncentrace, která byla 470 mg/l. Změny koncentrace N-NO_2^- na vstupu a výstupu jsou patrné z **Grafu 7**.



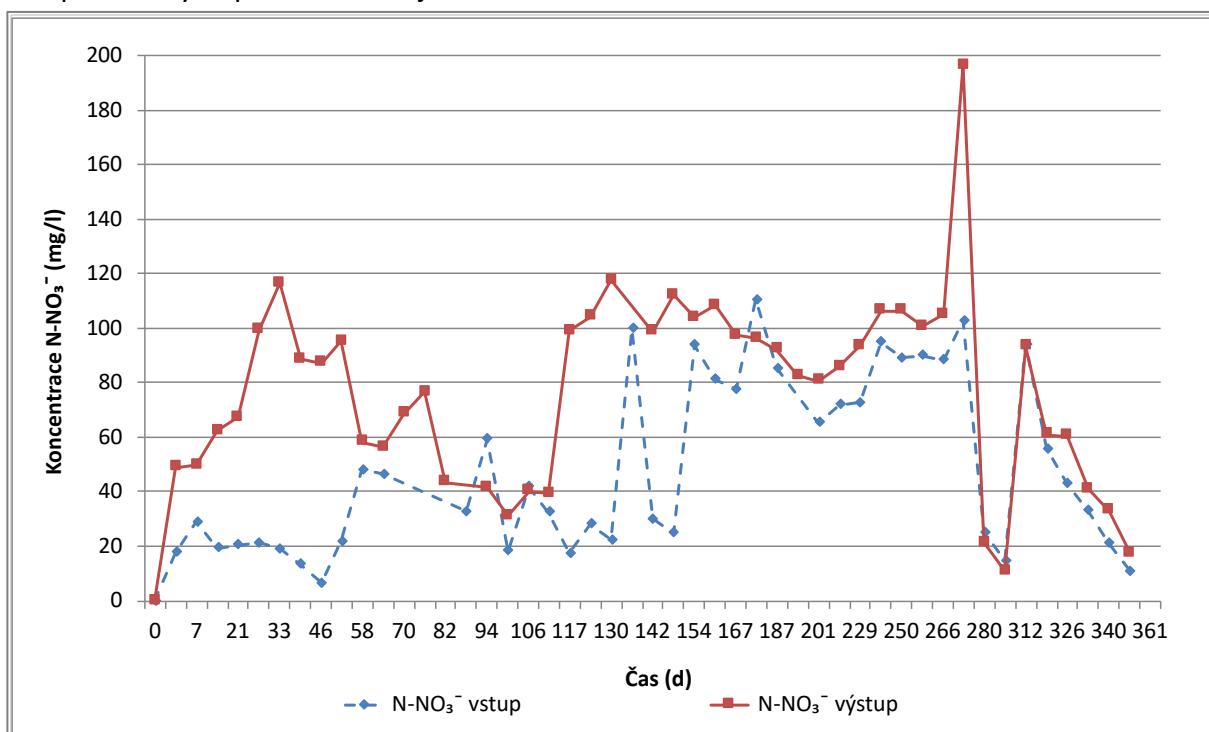
Graf 7: Změny vstupních a výstupních koncentrací N-NO_2^-

5.7 Vstupní a výstupní koncentrace N-NO_3^-

Vstupní koncentrace dusičnanů od 1. do 46. dne byly v rozmezí od 5 do 25 mg/l. Od 52. dne koncentrace dusičnanů pomalu stoupaly a do 94. dne pokusu byly v rozmezí od 50 do 60 mg/l. V období od 100. do 130. dne došlo k poklesu hodnot koncentrací, které byly 20 až 40 mg/l. V období od 136. do 161. dne došlo k výrazným výkyvům, kdy koncentrace N-NO_3^- byly v rozmezí od 20 do 100 mg/l. Od 167. do 273. dne byly koncentrace v rozmezí od 70 do 110 mg/l.

280. dne pokusu koncentrace dusičnanů rapidně klesla ze 100 mg/l na 25 mg/l, ale 312. dne pokusu zase stoupla na 70 mg/l. Od 333. dne do konce pokusu koncentrace N-NO_3^- měly klesající trend a byly v rozmezí od 10 do 60 mg/l.

Výstupní koncentrace dusičnanového dusíku byly vyšší než vstupní hodnoty. Střední hodnota dusičnanového dusíku na výstupu byla 75 mg/l. Od 1. dne měření měly koncentrací N-NO_3^- většinou měly stoupající trend a to do 33. dne měření, během tohoto období byly koncentrace v rozmezí od 50 do 120 mg/l. Od 40. do 111. dne došlo k poklesu koncentrace dusičnanového dusíku, které byly od 35 mg/l do 120 mg/l. Od 117. do 266. dne hodnoty koncentrace N-NO_3^- byly stabilní a pohybovaly se v rozmezí od 80 do 120 mg/l. 273. dne měření došlo k výraznému nárůstu koncentrace dusičnanů, která byla 200 mg/l, zatímco 280. dne došlo k rychlému poklesu na hodnotu koncentrací 20 mg/l. Od 312. dne do konce pokusu hodnoty mírně klesly a byly v rozmezí od 70 mg/l do 20 mg / l. Změny koncentrací vstupního a výstupního N-NO_3^- jsou viditelné na **Grafu 8**.



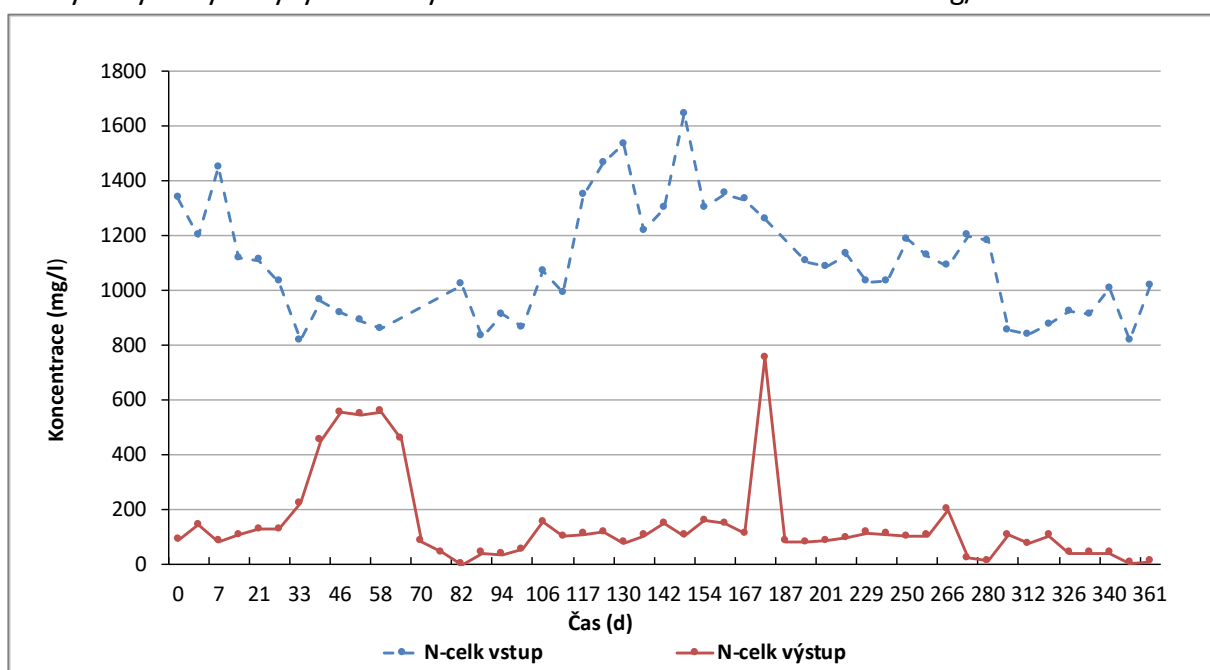
Graf 8: Změny vstupních a výstupních koncentrací N-NO_3^-

5.8 Koncentrace celkového dusíku

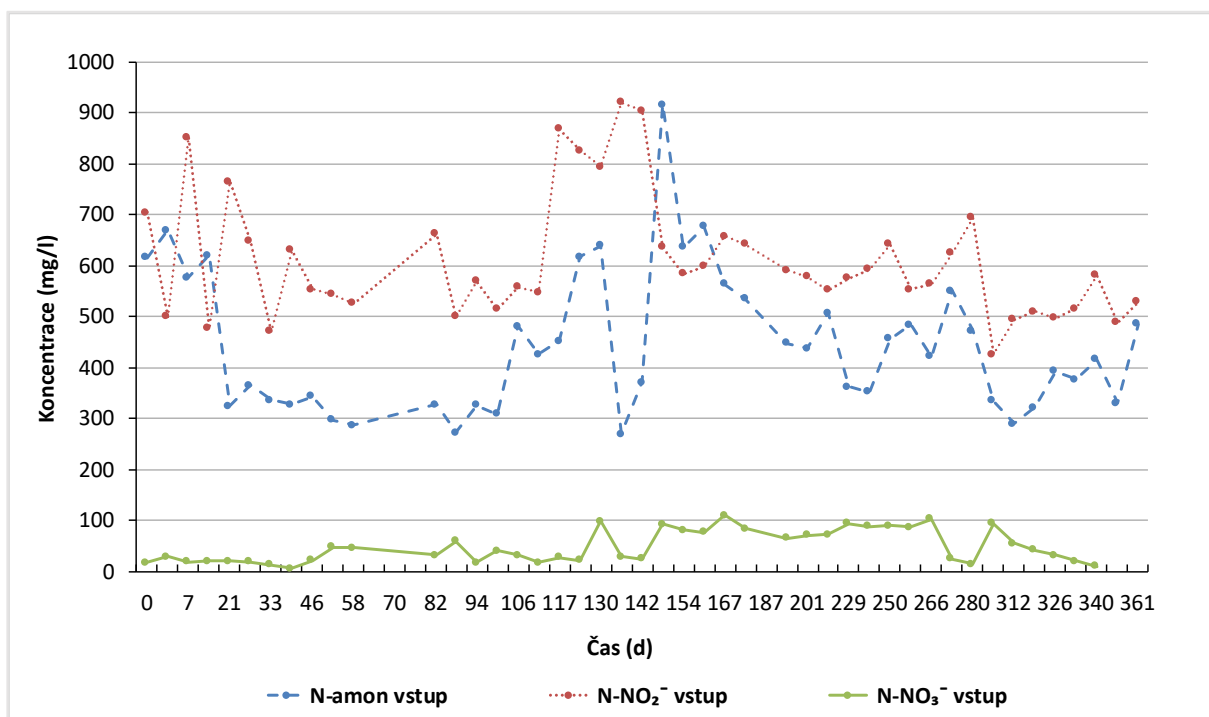
Na **Grafu 9** jsou uvedeny vstupní a výstupní hodnoty N-celk, který je sumou N-amon , N-NO_2^- a N-NO_3^- . Pro lepší pochopení vlivu jednotlivých složek na koncentrace N-celk, na **Grafu 10** a **Grafu 11** jsou uvedeny všechny tři formy dusíku jak na vstupu, tak i na výstupu samostatně. Koncentrace N-celk na vstupu byla po celou dobu pokusu v rozmezí od 800 mg/l do 1600 mg/l, přičemž v období od 1. do 13. dne byly koncentrace N-celk v průměru 1300 mg/l, pak na 21. dne měření začaly mírně klesat a byly v průměru 1000 mg/l a držely se na takové úrovni až do 106. dne měření. Od 111. dne hodnoty N-celk byly vyšší, a to v průměru 1450 mg/l. Od 154. dne měření do 280. hodnoty N-celk byly v rozmezí od 1100 do 1350 mg/l. Od

305. dne do konce pokusu měly vstupní koncentrace N-celk klesající trend a byly v rozmezí od 800 mg/l do 1000 mg/l. Vstupní hodnoty N-amon měly podobnou tendenci jako N-celk a jeho hodnoty v průměru byly v rozmezí od 300 do 600 mg/l. N-NO₂⁻ na vstupu v období od 1. dne do 33. dne měření měl výraznější výkyvy na rozdíl od N-amon a N-NO₃⁻ a jeho průměrné hodnoty během pokusu byly 500 až 700 mg/l. N-NO₃⁻ po celou dobu pokusu měl koncentraci od 30 mg/l do 110 mg/l.

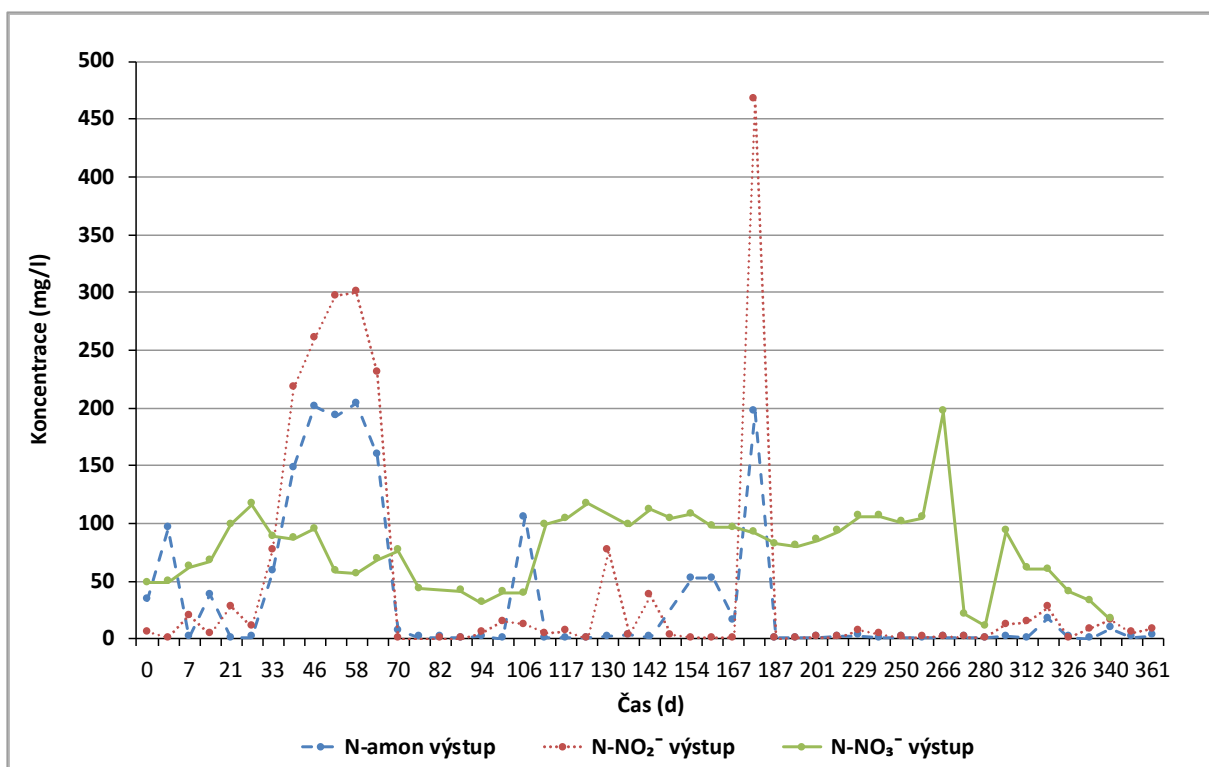
Koncentrace N-celk na výstupu měla na začátku pokusu stoupající tendenci, a to od 1. do 58. dne pokusu, kdy koncentrace N-celk dosáhla 548 mg/l. Pak od 64. dne měření koncentrace N-celk klesla z 548 mg/l na 84 mg/l. Od 70. do 167. dne měření nedošlo k žádným výrazným změnám hodnot a koncentrace se pohybovaly v rozmezí od 35 mg/l do 150 mg/l. 181. dne koncentrace N-celk rychle stoupla až na 756 mg/l. Od 187. dne měření do konce pokusu koncentrace N-celk na výstupu nepřesahovaly 200 mg/l a byly v průměru 60 mg/l. N-amon a N-NO₂⁻ měly podobnou tendenci jako N-celk. N-amon na výstupu od 1. dne měření do 70. měl hodnoty 50 až 200 mg/l. Od 76. dne a do konce pokusu jeho koncentrace většinou nepřesahovaly 3 mg/l. N-NO₂⁻ na výstupu od 1. dne měření do 70. dne měl také měl hodnoty a to 30 až 300 mg/l a od 76. dne a do konce pokusu jeho koncentrace většinou nepřesahovaly 5 mg/l. Hodnoty N-NO₃⁻ na výstupu po celou dobu pokusu nevykazovaly žádných výrazných výkyvů a měly koncentrace v rozmezí od 50 do 130 mg/l.



Graf 9: Vstupní a výstupní koncentrace N-celk



Graf 10: Vstupní koncentrace N-amon, N-NO₂⁻ a N-NO₃⁻



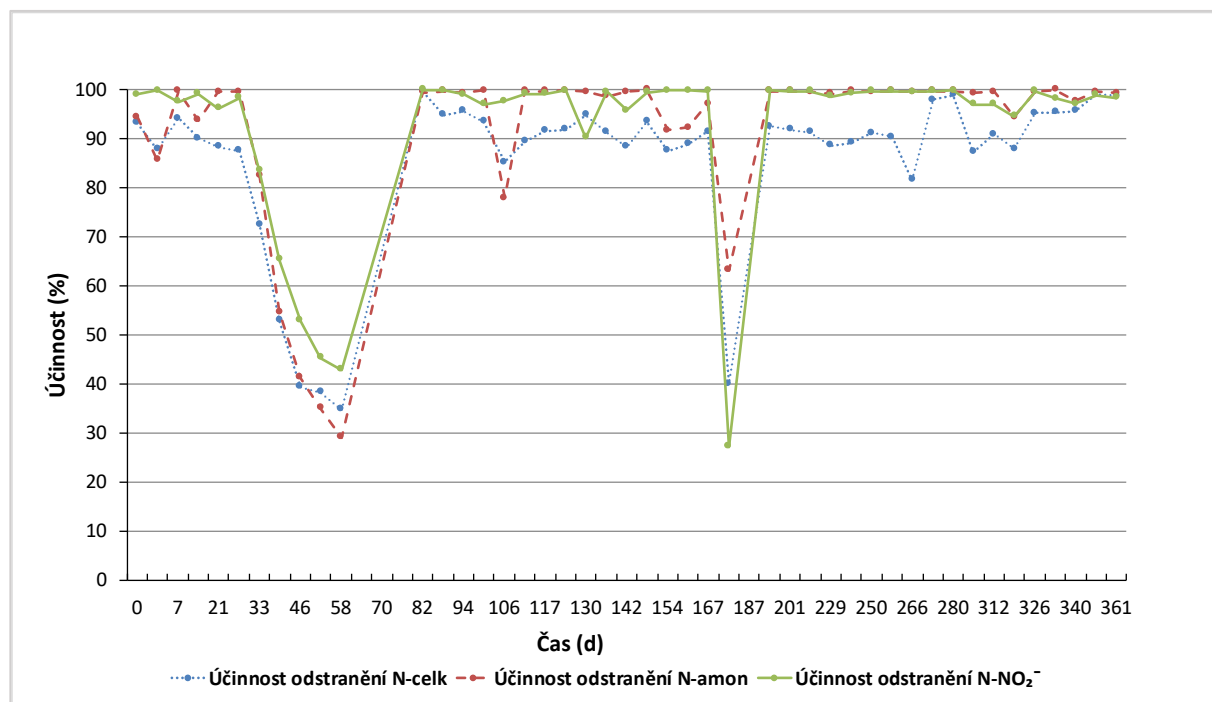
Graf 11: Výstupní koncentrace N-amon, N-NO₂⁻ a N-NO₃⁻

5.9 Účinnost odstranění jednotlivých forem dusíku

Na **Grafu 12** je uvedena účinnost odstranění jednotlivých forem dusíku a to N-celk, N-amon a N-NO_2^- . N-celk během prvních 33 dní měření dosahoval účinnosti odstranění 90 až 95 %. Od 46. do 82. dne došlo k rapidnímu poklesu účinnosti odstranění a to z 90 na 35 %. Od 88. dne měření do 161. účinnost odstranění byla 90 až 95 %. 167. dne došlo ke kolapsu procesu a účinnost odstranění N-celk byla jen 40 %. Od 201. dne a do konce pokusu účinnost odstranění byla 80 až 95 %.

Účinnost odstranění N-amon po celou dobu pokusu byla 90 až 100 %, ale s výkyvy během třech období, a to od 46. do 82. dne, kdy účinnost odstranění klesla postupně až na hodnotu 30 %, pak 106. dne, kdy účinnost odstranění byla jen 80 %. Poslední výkyv byl zaznamenán 167. dne, kdy účinnost odstranění byla 65 %.

Účinnost odstranění N-NO_2^- během prvních 33 dní měření dosahovala hodnot 95 až 100 %. V období od 46. do 82. dne účinnost odstranění výrazně klesla z 95 % na 45 %. Od 88. do 161. dne účinnost odstranění stoupla a byla 90 až 100 %. 167. dne došlo k poklesu účinnosti odstranění N-NO_2^- na 30 %. Od 201. dne do konce pokusu nedošlo k výkyvům koncentrací a účinnost odstranění N-NO_2^- byla v průměru 95 %.



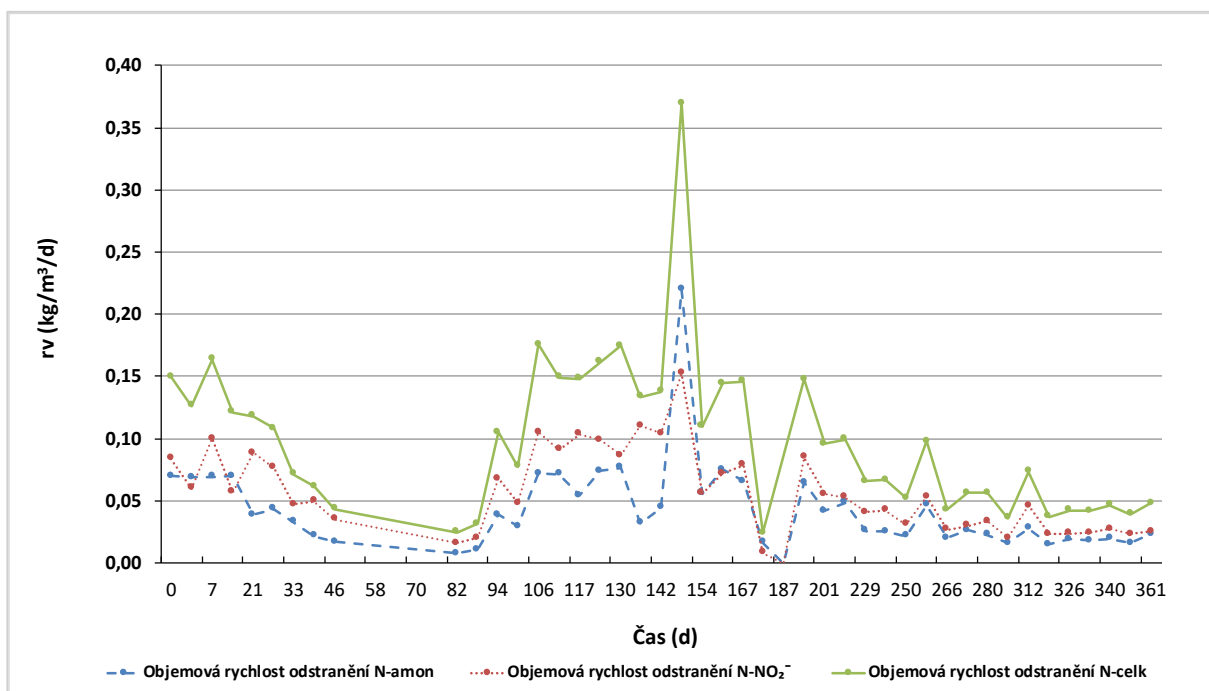
Graf 12: Účinnost odstranění N-celk, N-amon a N-NO_2^-

5.10 Objemová rychlost odstranění

Na **Grafu 13** je uvedena objemová rychlost odstranění N-celk, N-amon a N-NO_2^- . Na začátku pokusu objemová rychlost odstranění N-celk dosahovala hodnot okolo $0,15 \text{ kg/m}^3/\text{d}$, do 82. dne měření objemová rychlost odstranění měla klesající trend a byla v rozmezí od $0,05$ do $0,1 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 88. dne měření hodnoty objemové rychlosti odstranění stoupaly a do 201. dne měření byly $0,1$ až $0,2 \text{ kg/m}^3/\text{d}$, a to s výjimkou dne 148., kdy objemová rychlost odstranění byla větší, než $0,35 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 222. dne měření objemová rychlost odstranění N-celk měla klesající trend a byla v rozmezí od $0,05$ do $0,15 \text{ kg/m}^3/\text{d}$.

Objemová rychlost odstranění N-NO_2^- měla podobný trend, jako u N-celk. Na začátku pokusu objemová rychlost odstranění N-NO_2^- dosahovala hodnot $0,1 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Do 82. dne měření objemová rychlost odstranění měla klesající trend a byla v rozmezí od $0,05$ do $0,1 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 88. dne měření hodnoty objemové rychlosti odstranění stoupaly a do 201. dne měření byly $0,05$ až $0,15 \text{ kg/m}^3/\text{d}$, a to s výjimkou dne 187, kdy objemová rychlost odstranění byla $0,01 \text{ kg/m}^3/\text{d}$. Od 222. dne měření objemová rychlost odstranění N-NO_2^- měla klesající trend a byla v rozmezí od $0,03$ do $0,08 \text{ kg/m}^3/\text{d}$.

Objemová rychlost odstranění N-amon měla podobný trend, jako u N-celk. Hodnoty objemové rychlosti odstranění N-amon po celou dobu nepřesahovaly $0,1 \text{ kg/m}^3/\text{d}$, a to s výjimkou dne 154, kdy účinnost odstranění byla $0,23 \text{ kg/m}^3/\text{d}$.



Graf 13: Objemová rychlost odstranění N-celk, N-amon a N-NO_2^-

6 Diskuze

Tato práce se zabývá vyhodnocením dat, které byly získány v průběhu přibližně jednoho roku, ale celkově se jedná o dlouhodobý pokus, který byl založen již v roce 2015. Vzhledem k tomu, že experiment běží už 4 roky, celkový provoz laboratorní aplikace byl stabilizovaný a nebylo zapotřebí řešit zpracování procesu. Proto během pokusu, který popisuje tato práce, bylo možné se soustředit na vliv nízkých teplot na ANAMMOX proces a na sledování s tím souvisejících parametrů. Nejen nízké teploty, ale i další důležité faktory mají vliv na průběh ANAMMOX procesu, proto je nutno provést komplexní vyhodnocení výsledků a porovnat je s výsledky dalších odborných studií, aby bylo možné správně a objektivně posoudit získaná data a zvážit možnost aplikace ANAMMOX procesu při teplotách nižších než 20 °C. V následujících kapitolách bude prozkoumán vliv jednotlivých faktorů na ANAMMOX proces.

6.1 Vliv změn teplot na průběh procesu

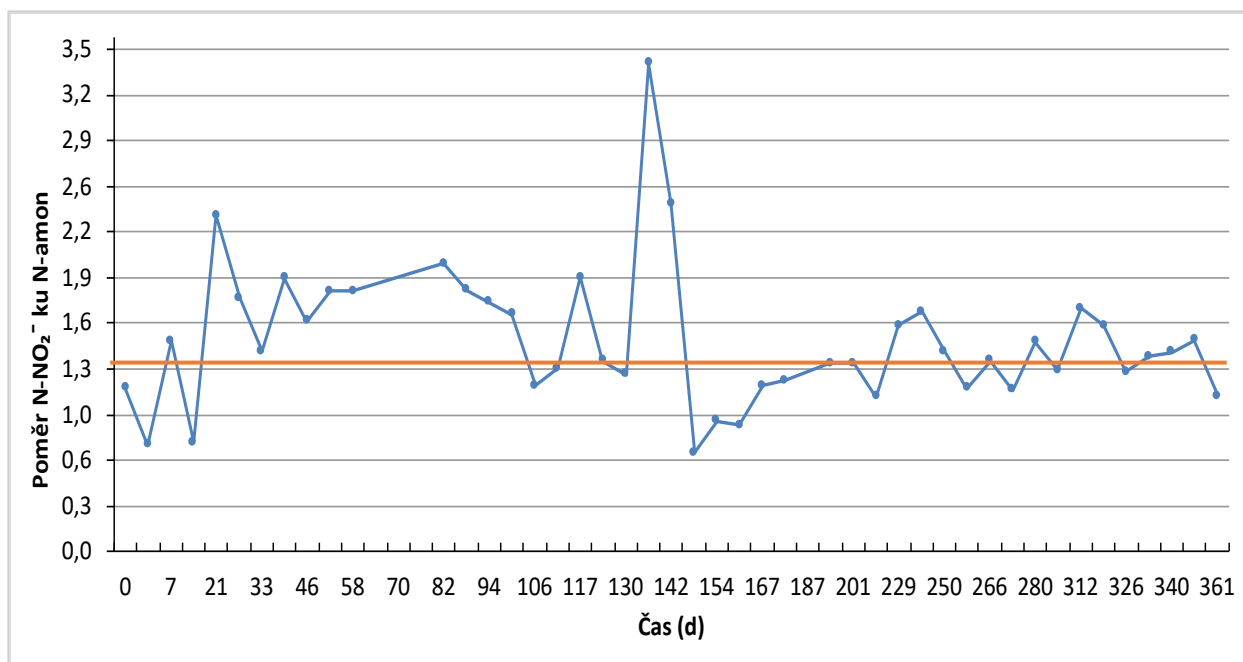
V rámci této diplomové práce byl zkoumán vliv nízkých teplot (17-20 °C) na průběh ANAMMOX procesu. Během pokusu teplota byla postupně snižována z 25 na 17 °C. Ze změn koncentrací jednotlivých forem dusíku popsanych v následujících kapitolách, je patrné, že snižující se teplota ve spojení s objemovým zatížením N-amon má významný vliv na rychlost a efektivitu procesu. Během první poloviny pokusu dvakrát došlo ke kolapsu procesu, a to bylo ve spojení s vyšším průtokem a s nižší teplotou. Proto pro druhou polovinu pokusu bylo zvoleno nižší zatížení při nižších teplotách, což na jednu stranu vedlo ke snížení rychlosti odstranění dusíku, ale na druhou stranu nezpůsobilo žádný další kolaps. To potvrzují výzkumy Hu et al. (2013), Laurení et al. (2016) a Zhang et al. (2019).

Navíc, hodně záleží na způsobu kultivace biomasy v reaktoru. Pro tento pokus byl použit aktivační systém, ale Gilbert et al. (2015) pozorovali, že účinnost biofilmu je větší než u aktivačního systému. Je tedy možno předpokládat, že výkon reaktoru by mohl být zvýšen přidávkou nosiče biofilmu do ANAMMOX reaktoru. Kartal et al. (2010) zjistili, že granulovaná biomasa je odolná teplotním výkyvům a toxinům. Vhodná volba biomasy ANAMMOX společenstva může v každém případě zvýšit efektivitu systému a rychlost odstranění jednotlivých forem dusíku.

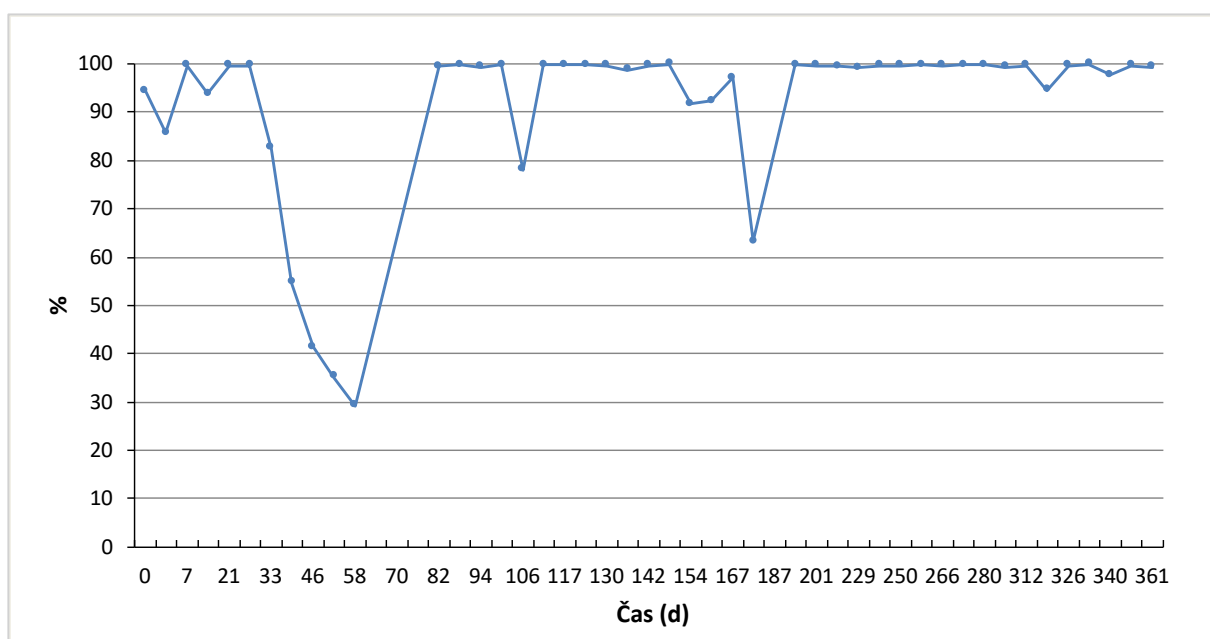
6.2 Průběh odstranění N-amon

Vstupní koncentrace N-amon během pokusu byly v průměru 400-500 mg/l, což je podobná koncentrace jako ve výzkumu Hu et al. (2013) a u Kouba et al. (2015), kde byl zkoumán ANAMMOX proces za obdobných teplotních podmínek. Průměrné objemové zatížení N-amon během pokusu popsaného v rámci této diplomové práce bylo 0,05 kg/m³/d.

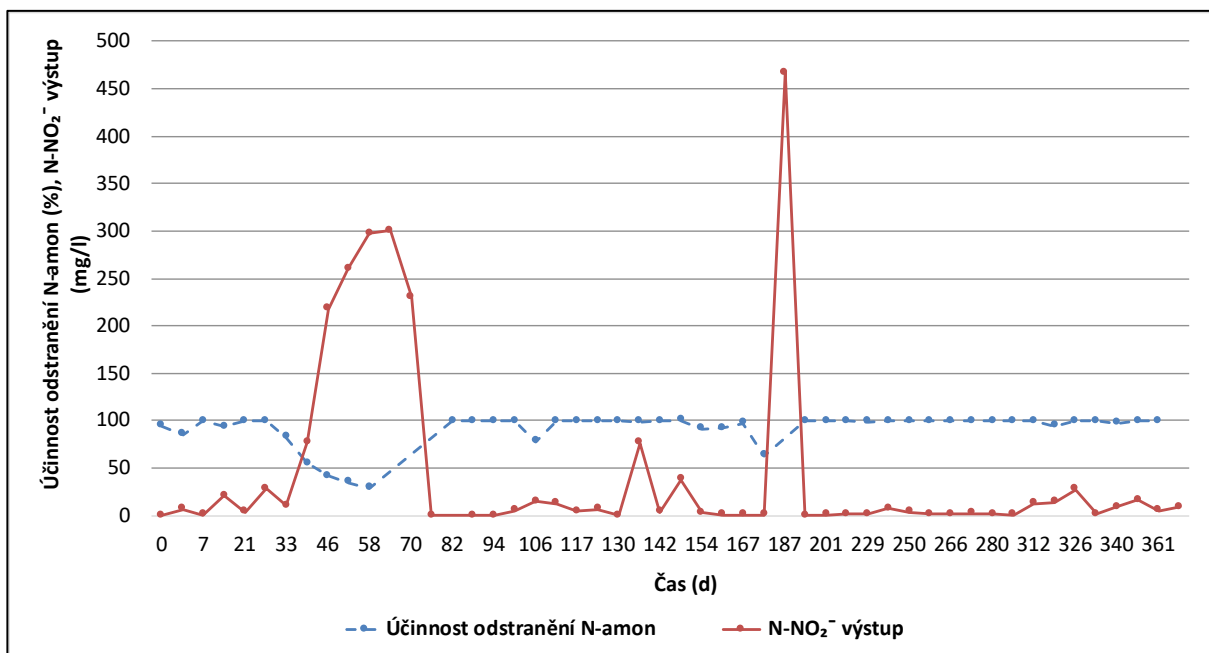
Na **Grafu 14** je uveden vstupní poměr N-NO_2^- ku N-amon. Z **Grafu 14** je patrné, že vstupní poměr N-NO_2^- ku N-amon nebyl ideální, resp. nebyl 1,32:1 po celou dobu pokusu. Během některých měření byl poměr nižší, což způsobilo to, že veškerý N-amon nemohl být odstraněn ANAMMOX procesem, a to je vidět na **Grafu 15**. V rámci měření, kdy poměr N-NO_2^- ku N-amon byl nižší, účinnost odstranění N-amon byla také nižší. S klesající účinností odstranění koncentrace N-amon mírně rostla koncentrace N-NO_2^- ve výstupu z reaktoru, což je vidět na **Grafu 16**.



Graf 14: Poměr N-NO_2^- ku N-amon



Graf 15: Účinnost odstranění N-amon



Graf 16: Účinnost odstranění N-amon a výstupní koncentrace N-NO₂⁻

Po dobu pokusu účinnost odstranění N-amon byla 90 až 100 %. 46. dne měření došlo k prvnímu kolapsu procesu a účinnost odstranění postupně klesala a 82. dne činila jen 30 %. Poslední výkyv byl na 167. den, kdy účinnost odstranění byla 65 % a došlo k druhému kolapsu procesu.

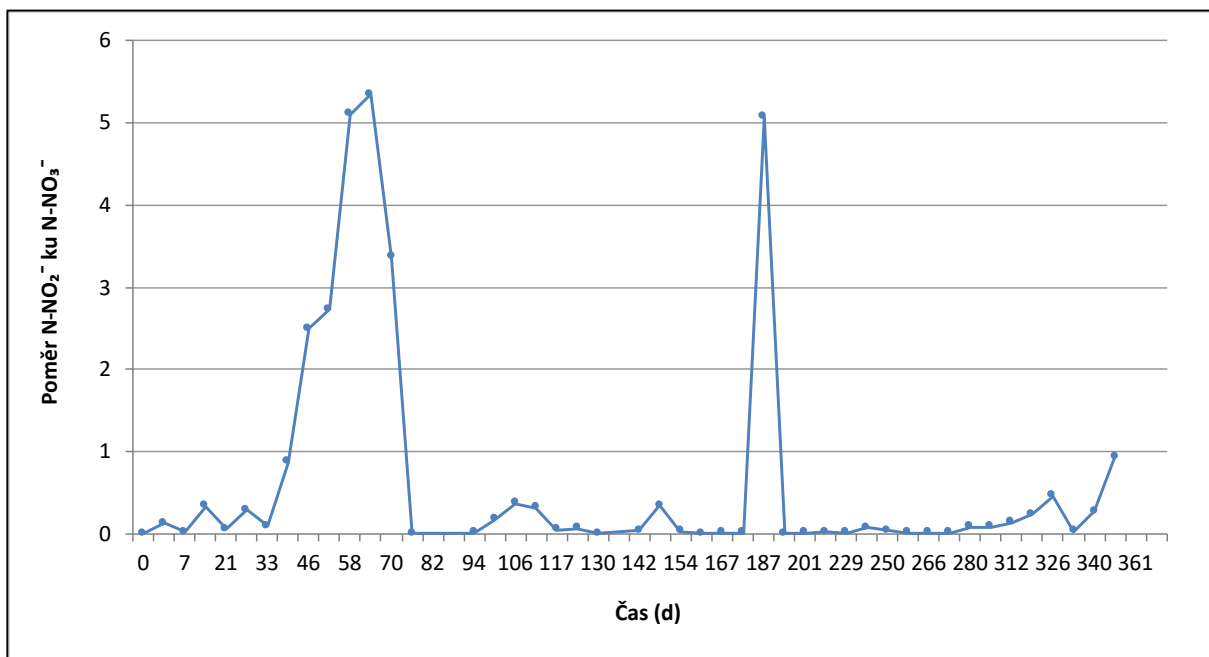
K poklesu teploty na 20 °C došlo od 181. dne měření, čímž bylo způsobeno okamžité snížení účinnosti odstranění N-amon a došlo k nárůstu N-NO₂⁻. Zatím ale došlo ke stabilizaci procesu a nebylo patrné, že by teplota měla vliv na účinnost odstranění N-amon.

Objemové zatížení N-amon v neposlední řadě ovlivňuje ANAMMOX proces. Od 1. dne měření do 195. dne zatížení N-amon bylo v rozmezí od 0,04 do 0,08. Během tohoto období dvakrát došlo ke kolapsu procesu. To se projevilo sníženou účinností odstranění N-amon, což naznačuje **Graf 16**. Od 201. dne měření a do konce pokusu zatížení bylo nižší a to 0,02 až 0,04. Během tohoto období nedošlo k problémům při provozu procesu.

6.3 Odstranění N-NO₂⁻ a produkce N-NO₃⁻

Během pokusu poměr N-NO₂⁻ ku N-amon byl nad ideálním poměrem, nebo pod ideálním poměrem. Tato skutečnost mohla být zásadním faktorem, ovlivňujícím ANAMMOX proces, což vychází z rovnice ANAMMOX procesu podle Strous et al. (1999). Průměrná koncentrace N-NO₂⁻ na vstupu byla 500-600 mg/l, výstupní koncentrace obou forem byly většinou pod 3 mg/l. Během pokusu účinnost odstranění N-NO₂⁻ byla vysoká, a to 97 až 99 %, s výjimkou měření, kdy došlo ke kolapsu procesu. Objemová rychlost odstranění N-NO₂⁻ během pokusu byla v rozmezí od 0,03 do 0,1 kg/m³/d a měla klesající tendenci v druhé půlce pokusu, během které byla snižována teplota při nižším zatížení dusíkem. Je zřejmé, že objemová rychlost

odstranění N-NO_2^- měla klesající tendenci v souvislosti s nižším zatížením N-amon. **Graf 17** znázorňuje poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklého N-NO_3^- .



Graf 17: Poměr odstraněného N-NO_2^- a vzniklého N-NO_3^-

Hu et al. (2013) uvádí, že ANAMMOX bakterie oxidují část dusitanu na dusičnan pro fixaci buněčného uhlíku, proto koncentrace N-NO_3^- na výstupu byly vyšší než na vstupu.

Poměr vzniklého N-NO_3^- ku spotřebovanému N-amon by měl podle Hu et al. (2013) být 0,26:1. Během pokusu byl v průměru dosažen poměr 0,2 až 0,3, jen v prvních dnech měření a na konci pokusu tento poměr byl nižší, a to 0,04 až 0,1.

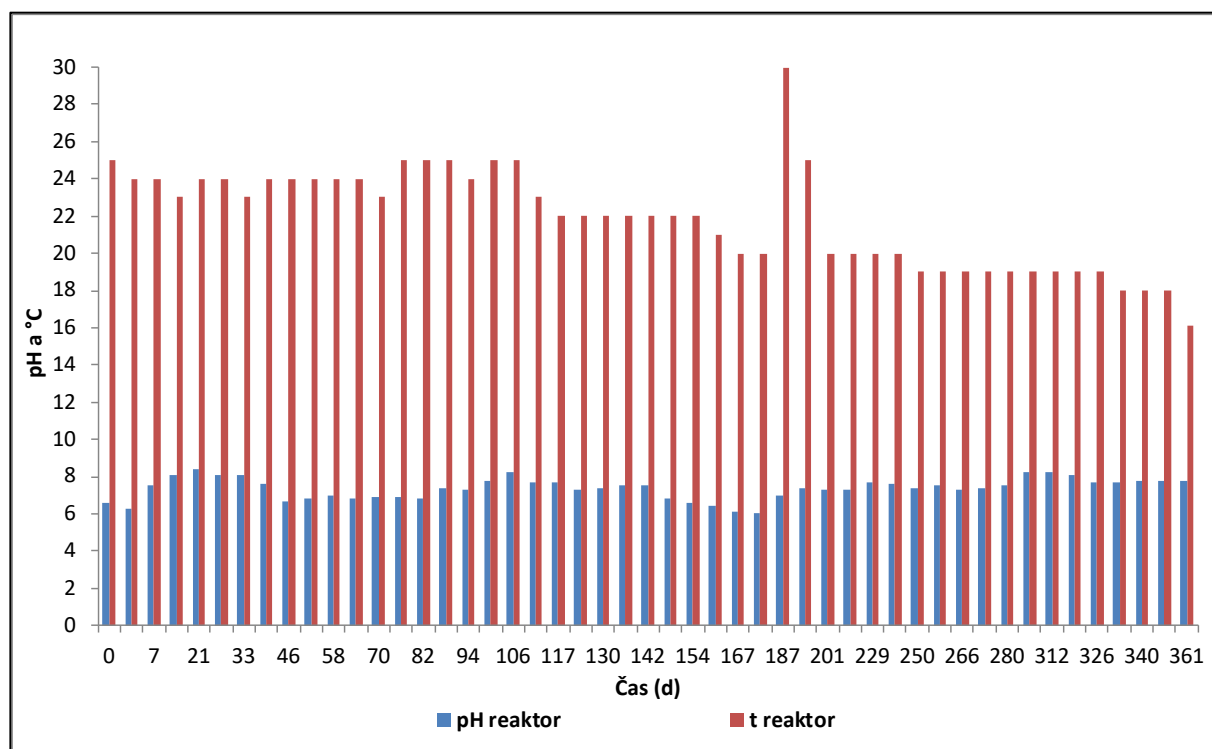
6.4 Vliv koncentrace O_2 na průběh procesu

ANAMMOX proces přirozeně funguje v ekosystémech omezených kyslíkem (Hu et al. 2013). Pomalý růst ANAMMOX bakterií může být ještě více inhibován vyššími koncentracemi kyslíku (Kuenen 2008). Podle Kouba et al. (2015) tak inhibice procesu může nastat při koncentraci kyslíku 0,85 mg/l. Wu et al. (2018) pozorovali inhibici procesu při koncentracích vyšších, než 1 mg/l. Během pokusu byla snaha udržovat co nejnižší koncentrace kyslíku, které po celou dobu nepřesahovaly 1 mg/l a byly v průměru 0,6 mg/l, ale v některých dnech (konkrétně dny 167, 181 a 187) byly koncentrace kyslíku vyšší, než 1 mg/l, což podle Kouba et al. (2015) a Wu et al. (2018) působí inhibici procesu. Je zřejmé, že došlo k inhibici procesu ve zmíněných fázích provozu reaktoru.

6.5 Vliv hodnot pH na průběh procesu

Van Nitrifik (2012) uvádí, že ANAMMOX bakterie jsou citlivé na změny hodnot pH a hodnoty pH pro normální průběh procesu by měly být od 7 do 8. Li et al. (2008) ve svém výzkumu také uvádí, že optimální hodnoty pH pro průběh procesu byly v rozmezí od 7 do 8. Hodnoty pH během pokusu popsaného v rámci této diplomové práce byly v rozmezí od 6,6 do 8,3, což je podle Li et al. (2008) a van Nitrifik (2012) po většinu období provozu reaktoru optimální rozsah hodnot pH pro normální fungování procesu. Oproti tomu Puyol et al. (2014) uvádějí, že hodnoty pH nižší než 7,2 inhibují ANAMMOX proces. Hodnoty pH nižší než 7,2 byly v rámci diplomové práce pozorovány v období od 1. dne měření do 88. dne měření. Během tohoto období účinnost odstranění byla nižší, ale to bylo pravděpodobně spojeno s obdobím stabilizaci celého procesu. Nižší hodnoty pH byly pozorovány také v období kolapsu procesu (dny 167-187), kdy hodnoty pH byly kolem 6. To mohlo být způsobeno podle Li et al. (2008) zvýšenou aktivitou AOB bakterií, které konkurují v boji o substrát v podobě N-amon s ANAMMOX bakteriemi. Činností AOB dochází k oxidaci N-amon na N-NO_2^- , což působí pokles hodnot pH.

Tomaszewski et al. (2017) uvádějí, že optimální rozsah pH pro ANAMMOX proces je 7 až 7,5, ale výzkum těchto autorů byl zaměřen především na souvislost nízkých teplot a pH, proto se dá předpokládat, že během pokusu bylo kolísání hodnot pH bylo ovlivněno nejen teplotou. Na **Grafu 18** je znázorněna závislost pH na teplotě a je vidět, že měnící se hodnoty teploty nemají velký vliv na změny pH.



Graf 18: Závislost pH na teplotě

7 Závěr

Během pokusu byla velká pozornost věnována vlivu teploty na ANAMMOX proces a na účinnost odstranění jednotlivých forem dusíku tímto procesem. Je zřejmé, že ANAMMOX proces může fungovat za nízkých teplot, ale záleží nejen na teplotě, ale i na vhodném objemovém zatížení reaktoru amoniakálním dusíkem, na dodržení ideálního koncentračního poměru dusitanového a amoniakálního dusíku. Navíc, velkou roli hraje i způsob kultivace biomasy (suspenze, biofilm či granulovaná biomasa), který může silně ovlivnit efektivitu procesu.

Při vhodném provozu a optimálních podmínkách, zejména při vhodné hodnotě zatížení systému dusíkem, mají ANAMMOX bakterie schopnost se adaptovat na nízké teploty pohybující se okolo 17-20 °C bez žádných výrazných výkyvů v účinnosti odstranění jednotlivých forem dusíku.

8 Seznam literatury

Aboud A. R., Bao J., Du J., Zheng D., Luo Y. 2014. Non-biodegradable landfill leachate treatment by combined process of agitation, coagulation, SBR and filtration. *Waste management* **34**(2):439-447.

Adav S. S., Lee D. J., Show K. Y., Tay J. H. 2008. Aerobic granular sludge: recent advances. *Biotechnology advances* **26**(5):411-423.

Ariunbaatar J., Di Petra E. S., Panico A., Frunzo L., Esposito G., Lens P. N. L., Pirozzi F. 2015. Effect of ammoniacal nitrogen on one-stage and two-stage anaerobic digestion of food waste. *Waste management* **38**:388-398.

Avouris P. & Dimitrakopoulos C. 2012. Graphene: synthesis and applications. *Materials today* **15**(3):86-97.

Bagchi S., Biswas R., Nandy T. 2010. Start-up and stabilization of an Anammox process from a non-acclimatized sludge in CSTR. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **37**:943-952.

Bernhard A. 2010. The Nitrogen Cycle: Processes, Players, and Human Impact. Department of Biology, Connecticut College. *Nature Education Knowledge* **2**(2):12.

Corral M. A., González F., Compos J. L., Méndez R. 2005. Partial nitrification in a SHARON reactor in the presence of salts and organic carbon compounds. *Process Biochemistry* **40**: 3109-3118.

Ehrig H. J. 1983. Quality and quantity of sanitary landfill leachate. *Waste Management & Research* **1**(1):53-68.

Geim A. K. & Novoselov K. S. 2010. The rise of graphene. Pages 11-19 in *Nanoscience and Technology: A Collection of Reviews from Nature Journals*. American Scientific Publishers, USA.

Gilbert E. M., Agrawal S., Schwartz T., Horn H., Lackner, S. 2015. Comparing different reactor configurations for partial nitrification/anammox at low temperatures. *Water research* **81**:92-100.

Habart J., Hanč A., Balík J., Švehla P., Jeníček P. 2010. Testování vlivu vybraných faktorů na průběh nitrifikace kalové vody. *Chem. Listy* **104**:343-348.

Hartig K. 2017. Problematika kalového hospodářství. *Časopis Vodní hospodářství*. Available from: <http://clc.am/lpL0vw> (accessed Duben 2017).

- Horáková M. & Ptáková H. 2003. Dusík. Pages 135-165 in Horáková M., editor, 2003. Analytika vody. Vysoká škola chemicko – technologická, Praha. ISBN: 807080520X.
- Horáková M. 2003. Chemická spotřeba kyslíku (CHSK). Pages 269-272 in Horáková M., editor, 2003. Analytika vody. Vysoká škola chemicko – technologická, Praha. ISBN: 807080520X.
- Hu Z., Lotti T., de Kreuk M., Kleerebezem R., van Loosdrecht M., Kruit, J., Kartal B. 2013. Nitrogen removal by a nitrification-anammox bioreactor at low temperature. Applied and environmental microbiology (AEM-03987) DOI:10.1128/AEM.03987-12.
- Chudoba J., Dohányos M., Wanner J. 1991. Biologické čištění odpadních vod. Nakladatelství technické literatury, Praha. 465 s. ISBN: 8003006112.
- Jefferson K. K. 2004. What drives bacteria to produce a biofilm? FEMS microbiology letters **236**(2):163-173.
- Jetten M. S., Strous M., Van de Pas-Schoonen K. T., Schalk J., van Dongen U. G., van de Graaf A. A., Kuenen J. G. 1998. The anaerobic oxidation of ammonium. FEMS Microbiology reviews **22**(5):421-437.
- Kartal B., Kuenen J.V., Van Loosdrecht M.C.M. 2010. Sewage treatment with anammox. Science **328**(5979):702-703.
- Kindaichi T., Tsushima I., Ogasawara Y., Shimokawa M., Ozaki N., Satoh H., Okabe S. 2007. In situ activity and spatial organization of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria in biofilms. Applied Environmental Microbiology **73**(15):4931-4939.
- Kollerová L. 2003. Veškeré, rozpuštěné a nerozpuštěné látky. Pages 269-272 in Horáková M., editor, 2003. Analytika vody. Vysoká škola chemicko – technologická, Praha. ISBN: 807080520X.
- Kouba, V., Hejnic, J., Widiayuningrum, P., Bartacek, J. 2015. Aplikace nitritace a Anammox na anaerobně předčištěnou splaškovou odpadní vodu. Vodní Hospodářství **6**:17-20.
- Kuenen J. G. 2008. Anammox bacteria: from discovery to application. Nature Reviews Microbiology **6**(4):320.
- Kulikowska D. 2012. Nitrogen removal from landfill leachate via the nitrite route. Brazilian Journal of Chemical Engineering **29**(2):211-219.
- Kurniawan T. A. 2011. Treatment of Landfill Leachate. Lambert Academic publishing GmbH and Co.KG., Germany. ISBN: 9783846550168.
- Kurniawan T. A., Lo W. H., Chan G. Y. 2006. Degradation of recalcitrant compounds from stabilized landfill leachate using a combination of ozone-GAC adsorption treatment. Journal of hazardous materials **137**(1):443-455.

- Laureni M., Falås P., Robin O., Wick A., Weissbrodt D. G., Nielsen J. L., Joss A. 2016. Mainstream partial nitrification and anammox: long-term process stability and effluent quality at low temperatures. *Water research* **101**:628-639.
- Li, A., Sun, G., Xu, M. 2008. Recent patents on anammox process. *Recent Patents on Engineering* **2**:189-194.
- Li Q., Wang S., Zhang P., Yu J., Qiu C., Zheng J. 2018. Influence of temperature on an Anammox sequencing batch reactor (SBR) system under lower nitrogen load. *Bioresource technology* **269**:50-56.
- Miao L., Zhang Q., Wang S., Li B., Wang Z., Zhang S., Peng Y. 2018. Characterization of EPS compositions and microbial community in an Anammox SBBR system treating landfill leachate. *Bioresource technology* **249**:108-116.
- Mulder A. 2003. The quest for sustainable nitrogen removal technologies. *Water Science and Technology* **48**(1):67-75.
- Pitter P. 1999. *Hydrochemie*. 3. přepracované vydání. Vydavatelství Vysoká škola chemicko-technologická, Praha. 580 s. ISBN:80030052562.
- Puyol D., Carvajal-Arroyo J. M., Li G.B., Dougless A., Fuentes-Velasco M., Sierra-Alvarez R., Field J. A. 2014. High pH (and not free ammonia) is responsible for Anammox inhibition in mildly alkaline solutions with excess of ammonium. *Biotechnology Letters* **36**:1981-1986.
- Raclavská H. 2007. *Technologie zpracování a využití kalů z ČOV*. VŠB-TU, Ostrava. 171 s. ISBN: 9788024816005.
- Rao E. P. & Puttanna K. 2000. Nitrates, agriculture and environment. *Current Science* **79**(9): 1163-1168.
- Schovánek J. 2017. *Realizace procesu ANAMMOX při nízkých teplotách*. Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Praha.
- Strous M., Kuenen J. G., Jetten M. S. 1999. Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Applied and environmental microbiology* **65**(7): 3248-3250.
- Tomaszewski M., Cema G., Ziemińska-Buczyńska A. 2017. Significance of pH control in anammox process performance at low temperature. *Chemosphere* **185**:439-444.
- Tomaszewski M., Cema G., Ziemińska-Buczyńska A. 2019. Short-term effects of reduced graphene oxide on the anammox biomass activity at low temperatures. *Science of The Total Environment* **646**: 206-211.

- Van Dongen U. G. J. M., Jetten M. S., Van Loosdrecht M. C. M. 2001. The SHARON®-Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water science and technology* **44**(1): 153-160.
- Van Hulle S. 2005. Modelling, simulation and optimization of autotrophic nitrogen removal processes [MSc. Thesis]. Ghent University, Belgie.
- van Niftrik L. & Jetten M. S. 2012. Anaerobic ammonium-oxidizing bacteria: unique microorganisms with exceptional properties. *Microbiology and molecular biology reviews* **76**(3):585-596.
- Wang B., He S., Wang L., Shuo L. 2005. Simultaneous nitrification and de-nitrification in MBR. *Water science and technology* **52**(10-11):435-442.
- Wang Y., Gong B., Lin Z., Wang J., Zhang J., Zhou, J. 2018. Robustness and microbial consortia succession of simultaneous partial nitrification, ANAMMOX and denitrification (SNAD) process for mature landfill leachate treatment under low temperature. *Biochemical Engineering Journal* **132**:112-121.
- Westlake K. 1995. Landfill. Waste treatment and disposal. Pages in 43-59 Hester R. E. & Harrison R. M., editors. The Royal Society of Chemistry, London.
- Wu N., Zeng M., Zhu B., Zhang W., Liu H., Yang L., Wang L. 2018. Impacts of different morphologies of anammox bacteria on nitrogen removal performance of a hybrid bioreactor: Suspended sludge, biofilm and gel beads. *Chemosphere* **208**:460-468.
- Zhang B., Zhao J., Zuo J., Shi X., Gong J., Ren H. 2019. Realizing stable operation of anaerobic ammonia oxidation at low temperatures treating low strength synthetic wastewater. *Journal of Environmental Sciences* **75**:193-200.
- Zhu G., Wang S., Ma B., Wang X., Zhou J., Zhao S., Liu R. 2018. Anammox granular sludge in low-ammonium sewage treatment: Not bigger size driving better performance. *Water research* **1**:147-158