

А.М. Мальований, Й.Й. Ятчишин, М.С. Мальований
 Національний університет “Львівська політехніка”,
 кафедра екології та охорони навколишнього середовища

ОЦІНКА ФАКТОРІВ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА СПЕЦИФІЧНУ АКТИВНІСТЬ ПРОЦЕСУ АНАМОКС

© Мальований А.М., Ятчишин Й.Й., Мальований М.С., 2010

Досліджено залежність продуктивності процесу Анамокс від рівнів загального азоту, температури та відношенням між вільним амонієм та вільною азотистою кислотою з використанням методу визначення специфічної активності Анамокс вимірюванням тиску газоподібного азоту. Досліджено індивідуальні та кумулятивні ефекти зміни факторів.

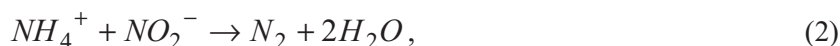
The study on finding dependence of performance of Anammox process on the levels of total nitrogen, temperature and the ratio between free ammonia and free nitrous acid was made using the method of determination of specific Anammox activity by measuring the pressure of nitrogen gas. Both separate and cumulative effects of factors' change have been investigated.

Вступ. Біологічний процес анаеробного окислення амонію (Анамокс), який нещодавно був відкритий [1], дав можливість розробити системи ефективного повністю автотрофного вилучення амонію з висококонцентрованих стічних вод.

Першим кроком до вилучення амонію у системах, що базуються на процесі Анамокс, є трансформація приблизно половини амонію, що міститься у воді, у нітрит із використанням добре відомого процесу нітризації



Другим кроком є процес Анамокс, де залишок амонію окислюється до газоподібного азоту з використанням нітриту, що вироблений у першому кроці, як електрон акцептора



Описаний процес повністю автотрофного вилучення амонію досліджувався з використанням пілотних установок [2, 3] та знайшов застосування у промислових біореакторах [4, 5].

Оскільки процес Анамокс був відкритий порівняно нещодавно – менше 15 років тому – все ще залишаються аспекти, які потрібно вивчити більше. Одним із них є дослідження індивідуальних та кумулятивних ефектів зміни факторів на швидкість перебігу процесу.

Основними факторами, які проявляють інгібуючий ефект на процес Анамокс, є розчинний кисень та вміст органічних речовин з низькою молекулярною масою [6, 7]. Також було показано [8, 9], що нітрати, сульфіді, фосфати та ацетати проявляють інгібуючі властивості у тих чи інших концентраціях.

Амоній та нітрит є головними субстратами для бактерій Анамокс, тому підвищення доступності субстрату повинно збільшувати активність бактерій у зв'язку з пришвидшенням дифузії їх у глибину біоплівки та через мембрани бактерій. Водночас, підвищена концентрація амонію та нітриту зменшує активність бактерій Анамокс [8, 9, 10]. Проте, результати цих праць показали зменшення активності бактерій для різних концентрацій.

Вплив температури на швидкість процесу Анамокс вивчали неодноразово різні вчені, у більшості праць було встановлено, що її зростання до рівня 40 °С приводить до зростання швидкості процесу. Подальше зростання температури до 45 °С негативно впливало на активність бактерій [11].

Використання комп'ютерної програми MODDE дало можливість вивчити індивідуальні та кумулятивні ефекти впливу температури, вхідної концентрації амонію та розчинного кисню на продуктивність процесу одностадійної деамоніфікації [12].

В усіх вищезгаданих працях дослідники, які вивчали інгібіцію процесу Анамокс амонієм та нітритом, використовували концентрацію у мг/л або ммоль для позначення рівня амонію та нітриту,

які подавляють процес. Проте, Антонізен [13], який вивчав нітрификацію та нітратифікацію, зробив висновок, що не іонізований амоній та нітрит, а неіонізовані вільний амоній (ВА) та вільна азотиста кислота (ВАК) пригнічують нітрификацію. Ситуація може бути аналогічною і до процесу Анамокс. Також не було знайдено праць, у яких би активність бактерій, що здатні анаеробно окислювати амоній, вивчалась у мультипараметричній системі, де одним з параметрів було відношення ВА/ВАК, що, імовірно, є відношенням вмісту двох субстратів процесу.

Беручи до уваги вищеперераховані міркування, було вирішено глибше вивчити залежність продуктивності процесу Анамокс від різних факторів. Досліджували вплив температури, вмісту загального азоту та відношення ВА/ВАК, які можуть мати найвагоміший вплив на процес Анамокс.

Матеріали та методи. Для експериментів, що описуються нижче, застосовували кільця Калднеса з питомою поверхнею $500 \text{ м}^2/\text{м}^3$ покриті біоплівкою нітритуючих бактерій та бактерій Анамокс.

Методологія, що використовувалась для визначення специфічної активності Анамокс (САА) ґрунтувалась на замірах тиску газу. Ця методологія є добре відомою і адаптованою від тієї, яка використовується у праці Дапена-Мора [9]. Визначення специфічної активності Анамокс ґрунтується на тому, що під час перетворення азоту з різних форм у газоподібний азот тиск у об'ємі закритої системи повинен зростати пропорційно до перетвореного азоту.

Тести активності проводились у скляних посудинах загальним об'ємом 38 мл з 13 мл газової фази. Для того, щоб утримувати рН стабільним, протягом тестів застосовували фосфатний буферний розчин. рН новоприготовленого розчину з $\text{pH} \approx 7,8$ і його значення модифікувалось до потрібного рівня додаванням невеликої кількості HCl або NaOH .

Для кожного тесту використовувалось 15 кілець Калднеса. Вільний об'єм посудин був деаерований азотом. Необхідні концентрації амонію та нітриту були створені додаванням відповідних концентрованих розчинів. Посудини зберігались у термостатичній водяній бані і періодично витягувались для вимірювання тиску всередині них з використанням мікроманометра.

За допомогою перерахунків значення тиску перетворювались у кількість азоту, який вилучався з рідини бактеріями Анамокс. Значення, які відповідали стабільному вилученню азоту, використовувались для розрахунку САА.

Для планування експериментів з ціллю дослідження впливу температури та вмісту субстрату на САА було обрано програму MODDE версії 7.0, що розроблена Umetrics AB. Ця програма дає можливість визначати залежність кількох відгуків системи від різних факторів (кількістю до 20) використовуючи мінімальну кількість експериментів. Роботу з програмою поділено на три частини.

Передусім, у програму вводяться відрізки значень факторів, які планується досліджувати, після чого програма пропонує сукупність тестів з різною комбінацією значень факторів, які необхідно проаналізувати. Після проведення тестів значення відгуку для них вводиться у програму і створюється модель, що відповідає експериментальним даним. Для створення моделі у цій роботі використовувався метод множинної лінійної регресії. Третьою фазою є використання моделі. Після створення моделі програма може обчислити значення відгуку та межу неточності для кожної точки інтервалів факторів, які аналізувались, та побудувати дво-, три- та чотиривимірні графіки залежності відгуку від факторів.

Проміжки значень ЗА, ВА/ВАК та Т, що використовувались у двох наборах тестів

	Перший набір тестів			Другий набір тестів		
	ЗА, мг/л	ВА/ВАК	Т, °С	ЗА, мг/л	ВА/ВАК	Т, °С
Мінімум	100	0,3	15	300	0,003	22,5
Середина	300	30	22,5	500	0,3	30
Максимум	500	3000	30	700	30	37,5

Досліджувані проміжки факторів для двох наборів тестів наведено у таблиці. Значення ВА/ВАК використовувались у логарифмічній шкалі. Перший набір тестів не показав максимуму САА і тому був проведений другий набір тестів і проміжки було посунуто у напрямку росту САА.

Для першого набору тестів використовувалась композитна модель з центруванням на грань з двома центральними точками (16 експериментів). Експериментальна робота над другим набором включала 17 експериментів. Для опрацювання даних цього набору використовувалась повнофакторіальна модель з двома центральними точками для того, щоб використати дані першого набору експериментів, які лежать у проміжку першого набору. Концентрації амонію та нітриту були обрані так, щоб отримати значення ЗА та ВА/ВАК, які необхідні. Концентрації ВА та ВАК обчислювались згідно з формулами (3) та (4) відповідно, які вперше були отримані та описані Антонізенем у 1976 р. [13].

$$BA = \frac{10^{pH}}{e^{\frac{6344}{T}} + 10^{pH}} \cdot C_{NH_4-N}, \quad (3)$$

$$BAK = \frac{1}{e^{\frac{-2300}{T}} \cdot 10^{pH}} \cdot C_{NO_2-N}, \quad (4)$$

Результати. Результати опрацювання експериментальних даних першого та другого набору тестів програмою MODDE, показали, що створені моделі можуть пояснити 99 та 96 % відхилення відгуку та передбачити 98 та 79 % його відхилення відповідно. Це означає, що створені моделі адекватно описують процес, але точність другої моделі є нижчою. Із опрацьованих даних також видно, що найбільший вплив на САА спричиняє температура. Два інші фактори – ЗА та ВА/ВАК – також чинять вплив на САА, проте меншою мірою.

Температура має різний вплив на САА залежно від ЗА та ВА/ВАК. Найбільший відносний ріст САА спостерігається за високих значень ЗА. Збільшення температури від 15 до 30 °С спричинює ріст САА на 251–484 %, що відповідає відносному росту САА на 8,7–12,5 % на 1 °С. Енергія активації процесу Анамокс, розрахована для різних кривих росту САА з збільшенням температури, змінюється від 67 до 86 кДж/моль. Це значення узгоджується з з даними Струуса [8] (70 кДж/моль) та є близьким до даних Доста [11] (63 кДж/моль).

Вплив температури на САА у проміжку від 15 до 37,5 °С показаний на рис. 1. З цього рисунка видно, що дані обох тестів узгоджуються, а швидкість процесу Анамокс зростає із збільшенням температури аж до верхньої межі досліджуваного параметра. Дослідження за вищих температур не проводилось, оскільки температура типових стічних вод, які можна очищати за допомогою процесу Анамокс, не перевищує досліджуваної.

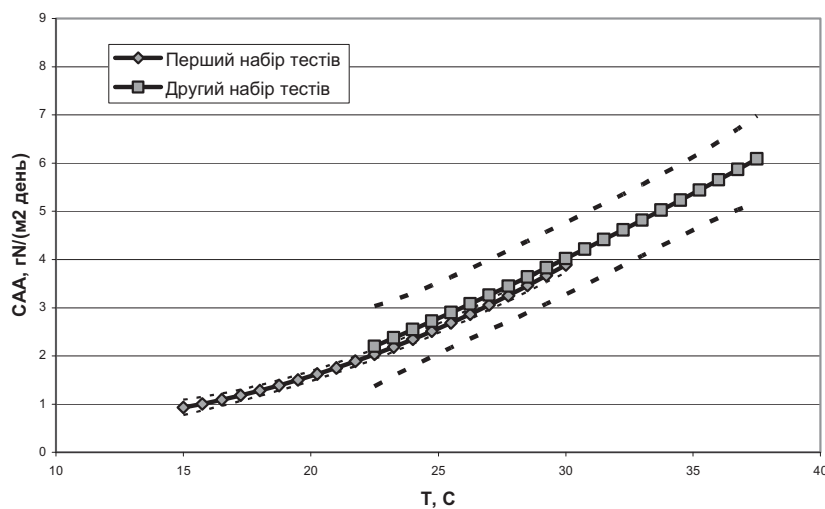


Рис. 1. САА як функція температури, за умови ЗА=300 мг/л та ВА/ВАК=30. Переривчасті лінії визначають інтервал 95 % достовірності

Вплив ЗА не є однаковим у різних температурних проміжках. Для температури 15 °С САА досягає максимальних значень за ЗА на рівні 300–350 мг/л, за температури у 22,5 °С максимум САА досягається для концентрації ЗА, що дорівнює 450–500 мг/л, а за температури 30 °С бактерії можуть переносити навіть дещо вищі значення ЗА (рис. 2). Подальше збільшення температури не дозволяє підвищувати значення ЗА до ще вищого рівня.

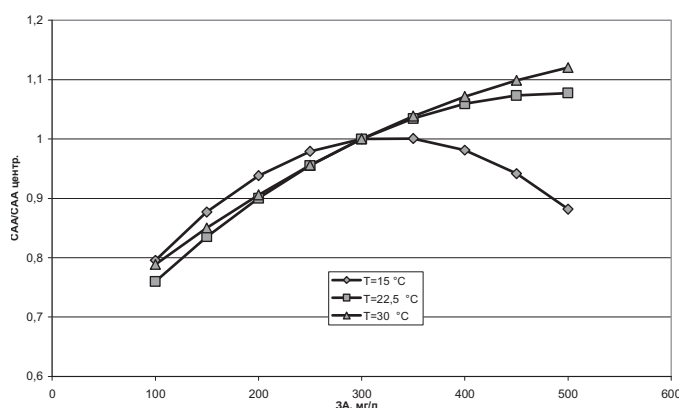


Рис. 2. Залежність САА від ЗА при різних значеннях температури.
Центральну точку взято за базис

Вплив відношення можливих вихідних субстратів процесу на САА є показаним на рис. 3. Із нього видно, що оптимальне значення ВА/ВАК лежить у проміжку 0,1–1.

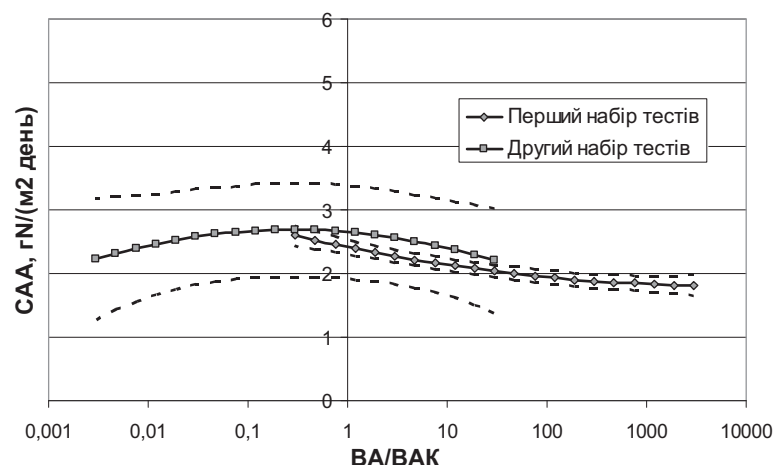


Рис. 3. САА як функція ВА/ВАК при ЗА=300 мг/л, T=22,5 °С.
Переривчасті лінії визначають інтервал 95 % достовірності

Висновки. Температура має найбільший вплив на САА з-поміж факторів, що були проаналізовані у цій роботі і вплив її залежить значною мірою від інших факторів. Оптимальним є виконання процесу за підвищених температур. Проте, оскільки зазвичай є економічно необґрунтованим нагрівати стічну воду через високі енергетичні затрати, важливим є підтримання інших параметрів, що впливають на процес, на оптимальному рівні. Також, у разі високої температури вихідної стічної води (наприклад, фільтрату центрифугування мулу анаеробного розкладу), необхідно вжити заходів для збереження її найвищою до подавання у біологічний реактор.

Із результатів дослідження можна зробити висновок, що інгібіція процесу загальним азотом є сильно залежною від температури і за вищої температури бактерії можуть працювати за вищих значень ЗА. Оптимум ЗА лежить у проміжку 400–500 мг/л за температур, вищих від 22,5 °С. Проте, такі високі значення ЗА є не вигідно підтримувати у промислових реакторах. Підтримання ЗА у реакторі ідеального змішування постійної дії на такому рівні означає, що вихідний потік матиме

таку саму високу концентрацію азоту, а ціллю застосування процесу Анамокс є зменшення рівня ЗА у стічній воді до мінімуму. Такий результат також означає, що чим нижчою є бажана концентрація на виході з реактора, тим довшим має бути гідравлічний час затримування у реакторі.

Оптимум відношення ВА/ВАК лежить у проміжку 0,1-1. Як видно з рівнянь (3) та (4), ВА та ВАК залежать від концентрацій амонію та нітриту відповідно, а також від значення рН. Зростання рН підвищує значення ВА/ВАК за сталих концентрацій амонію та нітриту. Це означає, що для досягнення низького значення ВА/ВАК, концентрація амонію повинна бути мінімальною з максимальною концентрацією нітриту та низьким рН.

1. Mulder A, van de Graaf A.A., Robertson L.A. and Kuenen J.G. *Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor // FEMS Microbiology and Ecology* 16. – 1995. – С. 177–183.
2. Gut L. (). *Assessment of a partial nitrification/anammox system for nitrogen removal. PhD Thesis, Land and Resources Engineering Department, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden.* – 2006.
3. Fernández I., Vázquez-Padín J.R., Mosquera-Corral A., Campos J.L. and Mendez R. *Biofilm and granular systems to improve Anammox biomass retention. Biochemical Engineering Journal* 42. – 2008. – P. 308–313.
4. Läckeby Water Group. (2007). *Nitrogen removal process for high-concentrated wastewater streams.* http://www.lackebywatergroup.se/inc/pdf/en_LWG_DEAMoon_0709.pdf (accessed 17 April 2009).
5. van der Star W.R.L., Abma W.R., Blommers D., Mulder J.W., Tokutomi T., Strous M., Picioreanu C., van Loosdrecht M.C.M. *Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: Experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. Water Research* 41. – 2007. – P. 4149–4163.
6. Güven D., Dapena-Mora A., Kartal B., Schmid M.C., Maas B., Pas-Schoonen K., Sozen S., Mendez R., Camp H.J.M, Jetten M.S.M., Strous M. and Schmidt I. (2004). *Propionate Oxidation by and Methanol Inhibition of Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria. Applied and Environmental Microbiology* 71(2), 1066–1071.
7. Isaka K., Suwa Y., Kimura Y., Yamagishi T., Sumino T. and Tsuneda S. (2008). *Anaerobic ammonium oxidation (anammox) irreversibly inhibited by methanol. Applied Microbiology and Biotechnology* 81, 379–385.
8. Strous M., Kuenen J.G. and Jetten M.S.M. *Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. Applied Environmental Microbiology* 65. – 1999. – P. 3248–3250.
9. Dapena-Mora A., Fernández I., Campos J.L., Mosquera-Corral A., Mendez R. and Jetten M.S.M. *Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. Enzyme and Microbial Technology* 40. – 2007. – P. 859–865.
10. Fux C., Marchesi V., Brunner I., Siegrist H. *Anaerobic ammonium oxidation of ammonium-rich waste streams in fixed-bed reactors. Water Science Technology* 49 (11/12). – 2004. – P. 77–82.
11. Dosta J., Fernández I., Vázquez-Padín J. R., Mosquera-Corral A., Campos J. L., Mata-Álvarez J. and Méndez R. *Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. Journal of Hazardous Materials*, 154(1–3). – 2008. – P. 688–693.
12. Bator E. *Research on optimization of CANON process using MODDE software. Master thesis, Land and Resources Engineering Department, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden, 2006.*
13. Anthonisen A.C., Loehr R.C., Prakasam T.B.S. and Srinath E.G. *Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. Journal WPCF* 48(5). – 1976. – P. 835–852.