

TARTU ÜLIKOOL
Loodus- ja täppisteaduste valdkond
Keemia instituut

Maarja-Liis Salumäe
DEAMMONIFIKATSIOONI KÄIVITAMINE
OLMEREOVEEPUHASTI METAANKÄÄRITI SETTEVEE
LÄMMASTIKUÄRASTUSEKS
Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad: PhD Taavo Tenno
MSc Markus Raudkivi
PhD Erik Mölder

Kaitsmisele lubatud:

Juhendaja: _____

Tartu 2019

SISUKORD

INFOLEHT	3
KASUTATUD LÜHENDID	4
SISSEJUHATUS	5
1.KIRJANDUSE ÜLEVAADE	7
1.1 Traditsiooniline lämmastikuärastus	7
1.2 Metaankääritus	8
1.3 Deammonifikatsiooniprotsess	8
1.4 Anammoks protsessi mõjutavad tegurid	9
1.5 MBBR süsteem ja biokilekandjad	13
2. EKSPERIMENTAALNE OSA	15
2.1 Analüütilised mõõtmised	15
2.2 Annustestide meetoodika	15
2.3 Settevee omadused	17
2.4 Tööstusliku pilootseadme kirjeldus	17
2.5 Laboratoorse seadme kirjeldus ja seadistamine	18
3. TULEMUSED JA ARUTELU	19
3.1 Takistused tööstusliku seadme opereerimisel	19
3.2 Laboratoorse seadme opereerimine	21
3.3 Opereerimise tulemused	23
KOKKUVÕTE	29
SUMMARY	30
KASUTATUD KIRJANDUS	31
TÄNUAVALDUSED	35

Infoleht

Deammonifikatsiooni protsessi käivitamine olmereoveepuhasti metaankääriti settevee lämmastikuärastuseks

Deammonifikatsioon on alternatiivne lämmastikuärastusmeetod, mida on otstarbekas kasutada kõrge lämmastikusisaldusega reovee käitlemiseks. Käesolevas bakalaureusetöös uuriti deammonifikatsiooni käivitust ühes Eesti reoveepuhastusjaama metaankääriti settevee käitluseks. Käivitusel kaasnevate probleemide tõttu alustati paralleelselt Tartu Ülikooli keskkonnaanalüüsi laboris protsessi paremaks jälgimiseks ning iseloomustamiseks sarnase mudelsüsteemi opereerimist. Mudel näitas, et ilma täismahulise opereerimise juures tekkivate probleemideta on antud biokilekandjad ja opereerimisparameetrid sobivad anammoksprotsessi käivituseks ja efektiivse lämmastikuärastuse saavutamiseks.

Märksõnad: anammoks, deammonifikatsioon, lämmastikuärastus.

CERCS: T270 Keskkonnatehnoloogia, reostuskontroll.

Deammonification process start-up for nitrogen removal from reject water of anaerobic digester.

Deammonification is an alternative nitrogen removal method, which is reasonable to use for nitrogen rich wastewaters. The aim of this Bachelor's thesis was to study start-up of deammonification process in one of Estonias wastewater treatment plant for anaerobic digester reject water. Due to the complications that arose, a similar model in University of Tartu environmental analysis laboratory was put into operation. The model showed that without the problems that occurred in the full-scale system the given biofilm carriers and operating parameters are suitable for the start-up of anammox to achieve effective nitrogen removal.

Keywords: ANAMMOX, deammonification, nitrogen removal.

CERCS: T270, Environmental technology, pollution control.

Kasutatud lühendid

Anammoks- anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon (anaerobic ammonium oxidation)

AAOB- anaeroobsed ammooniumi oksüdeerivad bakterid

AOB- ammooniumi oksüdeerivad bakterid

NOB- nitritit oksüdeerivad bakterid

FA- vaba ammoniaak (free ammonia)

FNA- vaba lämmastikushape (free nitrous acid)

KHT- keemiline hapnikutarve

MBBR- liikuvate kandjatega biokilepuhasti (moving bed biofilm reactor)

p/m- pööret minutis

Sissejuhatus

Veekogude eutrofeerumine ehk rikastumine toitainetega, toob sageli kaasa hapnikupuuduse ja veekvaliteedi halvenemise, mis omakorda mõjutab negatiivselt vee-elustikku. Nimetatud protsessi üks peamised põhjustajad on lämmastikühendid, mis on reovees alati suuremal või vähemal määral esindatud (Van Hulle et al. 2010). Et vältida suurtes kogustes lämmastikühendite veekogudesse jõudmist, tuleb ühend reoveest võimalikult efektiivselt ärastada.

Tavapärase nitrifikatsiooni-denitrifikatsiooni kõrval on lämmastiku ärastuseks hakanud levima anaeroobne ammooniumi oksüdatsioon (anammoks). Tegemist on autotroofse lämmastikärastusprotsessiga, mis on sobilik kõrge lämmastikusisaldusega reovee puhastamiseks. Anammoks protsess on tunduvalt energiasäästlikum kui nitrifikatsioon-denitrifikatsioon, sest vajab vähem aeratsiooni ja täiendavalt süsinikku pole vaja üldse lisada (Feng et al. 2017).

Kuigi anammoks protsessi on viimasel ajal palju iseloomustatud, on tegemist siiski küllaltki uue tehnoloogiaga. Deammonifikatsioonitehnoloogia on üks anammoksi rakendustest, mida Tartu Ülikooli töörühm on arendanud läbi mitmete erinevate etappide - laboriskaalal ja pilootskaalal. 2018. aasta lõpus, peale rakendusuuringute lõppu käivitati ühes Eesti reoveepuhastusjaamas esmakordselt täismahus deammonifikatsiooniprotsess metaankääriti settevee käitluseks. Projekti eripäraks on, et anammoks biomass kasvatatakse ise ja patenteeritud deammonifikatsioonitehnoloogiat ei kasutata. Viimane vähendab oluliselt alginvesteeringu maksumust, kuid komplitseerib käivitust. Käesolev töö uurib ja analüüsib protsessi käivitust ja anammoks bakterite aktiivsust pooleaastase perioodi vältel. Hetkel on deammonifikatsioonitehnoloogia kasutusel vähem kui paarisajast reoveepuhastusjaamas maailmas ja Eestis võetakse tehnoloogia kasutusele esmakordselt (Ali & Okabe. 2015). Kuna tegemist on bioloogilise puhastusmeetodiga, siis tegureid, mis protsessi inhibeerivad on palju ja sobivate keskkonnatingimuste leidmine on keeruline. Suureks takistuseks on ka deammonifikatsiooni pikk ja ebakindel käivitusaeg, esimese täismahus anammoksil põhineva reaktori käivitamiseks kulus 3,5 aastat (van der Star et al. 2007).

Uuringuperioodi keskel polnud pinnale kuhjunud biokilekandjate ja tehniliste probleemide tõttu protsessimahutis anammoks bakterite aktiivsust täheldatud. Sellest tulenevalt käivitati paralleelselt Tartu Ülikooli keskkonnaanalüüsi laboris deammonifikatsiooni protsessimahutit

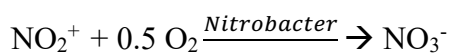
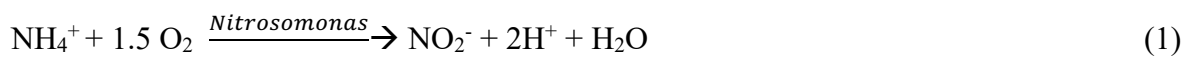
ja selle algingimusi imiteeriv reaktor. Mudeli eesmärgiks oli sobivatel tingimustel ja ilma tehniliste probleemideta opereerimisel demonsteerida efektiivset lämmastikuärastust.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1 Traditsiooniline lämmastikuärastus

Lämmastikuärastuseks on olemas nii bioloogilised kui ka füüsikalis-keemilised meetodid. Enimlevinud on bioloogilised lämmastikuärastustehnoloogiad soodsa hinna ja kõrge efektiivsuse tõttu. Peamiselt kasutatakse nitrifikatsiooni-denitrifikatsiooni meetodit, mis on kaheetapiline protsess. Esmalt ammooniumioon oksüdeeritakse nitritiooniks (NO_2^-) ammooniumit oksüdeerivate bakterite (AOB) abil (võrrand 1), millele järgneb nitritiooni oksüdatsioon nitraatiooniks (NO_3^-) nitritit oksüdeerivate bakterite abil (NOB) (võrrand 2). Mõlemad reaktsioonid vajavad hapnikku ehk aeroobseid tingimusi. Igat etappi viivad läbi bakterid, kes kasutavad ammoonium- või nitritiooni energiaallikana ning molekulaarset hapnikku elektronakseptorina, süsinikuallikaks on süsihappegaas. Peamised bakterid, kelle abil toimub ammooniumiooni oksüdatsiooni on *Nitrosomonas*, peamised nitritlämmastiku oksüdeerijad on *Nitrobakterid* (Ahn. 2006). Nitrifikatsioonile järgneb denitrifikatsioon, kus anoksilistes tingimustes nitraatioon redutseeritakse gaasiliseks N_2 -ks anaeroobsete heterotroofsete bakterite abil (võrrand 2). Bakterid kasutavad elektronakseptorina hapniku asemel nitraat- või nitritiooni ning orgaanilisi ühendeid süsiniku- ja energiaallikana (Kumar and Lin. 2010). Sõltuvalt reovee iseloomust ning süsinik-lämmastik suhtest, võib olla vajadus lisada protsessi orgaanilise süsiniku allikat (odavuse tõttu enamasti metanooli), et tagada bakteritele nitrifikatsioon-denitrifikatsiooniprotsessi läbiviimiseks piisavalt energiat.

Oksüdatsioon ammooniumioonist nitraatiooniks (nitrifikatsioon) toimub kaheetapiliselt (Cheremisinoff 1996):



Denitrifikatsiooni stöhhomeetria, kus metanool on elektrondoonor (Cheremisinoff 1996) :



Kuigi klassikaline nitrifikatsiooni-denitrifikatsiooni protsess on enimlevinud on sel omad miinuseid, mistõttu on anaeroobset ammooniumi oksüdatsiooni viimastel aastakümnetel alternatiivse meetodina laialdaselt uuritud, eriti just madala orgaanikasisaldusega reovette käitlemiseks.

1.2 Metaankääritus

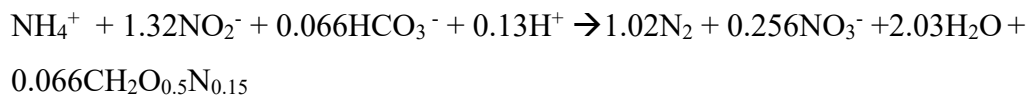
Reovee puhastamise tagajärjel tekib suures koguses reoveesetet, mida on teatud mahust alates otstarbekas anaeroobselt kääritada. Reoveesette anaeroobse kääritamise ajal tõstetakse anaeroobses keskkonnas temperatuuri, mille käigus lagunevad orgaanilised süsinikühendid ning bakterid ja haigustekitajad hävitatakse (Werther and Ogada. 1999). Majanduslikel kaalutlustel on enamlevinud mesofiilne kääritus, kus temperatuur on 35-38 °C.

Reoveesette anaeroobse kääritamise käigus tekib kaks väärtuslikku kõrvalprodukti, milleks on biogaas ja stabiliseeritud reoveesete. Biogaasi saab kasutada elektri- ja soojusenergia tootmiseks, stabiliseeritud setet kompleksväetisena põllumajanduses. Uuritava reoveepuhastusjaama kogu reoveemuda kääritatakse metaantankis ning tekkivat biogaasi kasutatakse muda soojendamiseks kui ka elektrienergia saamiseks. Reoveepuhastites, kus puhastatakse peamiselt olmereovett ning kus on metaantankid liigmuda stabiliseerimiseks, hügieniseerimiseks ja sette koguse vähendamiseks, on ülimalt oluline, et settevett saaks eraldi käidelda ning mitte suunata kohe tagasi biopuhastusse. Kui rejektvesi suunata otse tagasi biopuhastusse, suureneb reoveepuhasti lämmastikukoormus ligikaudu 20%, sest metaankäärituse käigus tekkiv settevesi on kõrge lämmastiku- ja madala süsinikusisaldusega (Szatkowska et al. 2007). Nimelt leostub suur osa lämmastikku pärast reoveemuda anaeroobset käitlemist vesifaasi. Kui fosforist jääb settesse keskmiselt 80-85%, siis lämmastikust ainult 50-60% (Tenno et al. 2013).

Nitrifikatsiooni-dentifikatsiooni meetodil töötav reoveepuhasti ei suuda sellist reovett efektiivselt puhastada. Lisanduva lämmastikukoormuse korral on vaja intensiivsemat aeratsiooni ja suuremat süsinikuallika doseerimist, mis tõstab oluliselt kulutusi opereerimisele. Samuti suureneb tekkiva ja käitlust vajava liigmuda kogus. Seetõttu on otstarbekas rejektvee käitluseks kasutada deammonifikatsiooni, et vähendada lämmastiku tagasikandumist bioloogilisse puhastusetappi (Gut et al. 2007; Zekker et al. 2011; Jeanningros et al. 2010).

1.3 Deammonifikatsiooniprotsess

Anammoks bakterid kasutavad ammooniumlämmastiku muundamisel gaasiliseks lämmastikuks elektronaktseptorina nitritlämmastikku, antud bioloogiline reaktsioon on kirjeldatud järgnevas stöhhiomeetrilises võrrandis (stöhhomeetriakordajad on taandatud ühele moolile ammooniumioonidele) (Strous et al. 1998):



Efektiivse anammoks protsessi läbiviimiseks peab seega $\text{NO}_2^-/\text{NH}_x$ suhe olema 1.32 (Van de Graaf et al. 1996). Paraku sellist nitrit- ja ammooniumiooni suhet tavapärasel reovees ei leidu, mistõttu on piisava nitritiooni osakaalu saamiseks vajalik kas nitriti pidev juurde lisamine või osalise nitrifikatsiooni ehk nitritatsiooni rakendamine.

Deammonifikatsiooniks nimetatakse protsessi, kus esmalt viiakse läbi nitritatsioon, millele järgneb anaeroobne ammooniumi oksüdeerimine ehk anammoks (Feng et al. 2017). Nitritatsiooni käigus oksüdeeritakse AOB-de abil 55-60% ammooniumioonist (NH_4^+) nitritiooniks (NO_2^-). Sellele järgnevas anammoks faasis oksüdeeritakse anoksilistes tingimustes ülejäänud ammooniumioon gaasiliseks lämmastikuks, sealjuures 12% ulatuses tekib kõrvalproduktina nitraatiooni (Strous et al. 1998).

Võrreldes nitrifikatsiooni-denitrifikatsiooni meetodit deammonifikatsiooniga, on viimane tunduvalt energiasäästlikum, kulutused aeratsioonile vähenevad umbes 60% ulatuses. Ühtlasi puudub vajadus doseerida täiendavalt orgaanilist süsinikku, sest nii AOB-d kui ka AAOB-d kasutavad süsinikallikana anorgaanilist süsinikku (Feng et al. 2017). Lisaks on deammonifikatsiooniga tekkiv liigmuda kogus kuni 90% väiksem. Ka kasvuhoonegaaside emissioonid on hulga väiksemad, süsinikdioksiidi tekib kuni 90% vähem ning naerugaasi (N_2O) ei teki deammonifikatsiooni käigus üldse (Kartal et al. 2010).

1.4 Anammoks protsessi mõjutavad tegurid

Kuigi deammonifikatsioonil on palju eeliseid on selle käivitamine ning opereerimine märksa keerulisem kui on näiteks tavapärasel nitrifikatsioonil-denitrifikatsioonil. Protsessi läbiviimiseks on vaja saavutada sobivad tingimused nii AOB-dele kui ka anammoks bakteritele. See-eest NOB-de kasv peaks olema limiteeritud, et takistada liigset nitraatlämmastiku teket. Lisaks on vajalik jälgida ka substraadi (nitrit- ja ammooniumlämmastiku) sisaldust, lahustunud hapnikku, temperatuuri, pH-d jm tingimusi, mis võivad omada kahjulikku mõju biomassile. On leitud, et ka mehaaniline stress on protsessi üheks inhibiitoriks (Arrojo et al. 2006).

Inhibitsiooni tuleks vältida, sest anammoks bakterite kasvukiirus on aeglane, mistõttu kulub ka inhibitsioonist taastumisele pikk aeg. AAOB-de kahekordistumise aeg on 30-40 °C juures 10-14 päeva, st ligi 15 korda aeglasem kui nitrifitseerijatel bakteritel (Strous et al. 1998). Pikk kasvukiirus ongi üheks suurimaks probleemiks anammoks bakterite kasutamisel ning eriti just protsessi käivitamisel.

1.4.1 Substraadi mõju (nitrit- ja ammooniumlämmastik)

Nii nitrit- kui ammooniumiooni kõrge sisaldus inhibeerib anammoksi protsessi, kuid reeglina on anammoks bakterid tundlikumad kõrgele nitritiooni sisaldusele kui kõrgele ammooniumiooni sisaldusele (Feng et al. 2017). Üldjuhul on anammoks protsessi inhibeeriv ammooniumiooni sisaldus on 1000 mg NH₄⁺-N/l või kõrgem (Rajagopal et al. 2013), kuid on leitud, et ka juba 770 mg NH₄⁺-N/l inhibeerib AAOB-d aktiivsust 50% võrra (Dapena- Mora et al. 2007). Kõrgemaid kontsentratsioone talutakse paremini kui vaba ammoniaagi (FA) ehk ammooniumiga tasakaalus oleva molekulaarse vormi kontsentratsioon on madal, väljakujunenud biomassi korral on optimaalseks kontsentratsiooniks 0-25 mg NH₃-N/l (Fernández et al. 2012). Antud väärtus sõltub pH-st (tasakaaluliselt hakkab vaba ammoniaaki tekkima pH väärtusel üle 8), temperatuurist ja ammooniumiooni sisaldusest (Feng et al. 2017). Kui biomass pole veel välja kujunenud ja adaptatsiooni ei ole toimunud on vaba ammoniaak üks põhilistest inhibiitoritest, sel juhul võib juba 2 mg NH₃-N/l mõjuda inhibeerivalt (Jung et al. 2007).

Nitritlämmastik on anammoks protsessi jaoks vajalik substraat (elektronakseptor), mis võib teatud väärtust ületades protsessi inhibeerida ning liiga madala sisalduse korral jällegi limiteerida. On leitud, et nitritiooni inhibeerivad kontsentratsioonid (IC₅₀) on 100 mg NO₂⁻-N/l kuni 400 mg NO₂⁻-N/l, sõltudes biomassi tüübist (Raudkivi et al. 2016, Kimura et al. 2010). Nagu ammooniumi puhulgi, talub kõrgeid nitritiooni kontsentratsioone paremini väljakujunenud ja adapteerunud biomass. Kontroll nitritiooni kontsentratsiooni üle käivitusfaasis on eriti oluline, sest siis võivad inhibeerida juba tunduvalt väiksemad kontsentratsioonid, ca 50 mg NO₂⁻-N/l. Siiski on soovituslik on hoida nitriti kontsentratsiooni kogu protsessi vältel madalal (< 20 mg/L) (Raudkivi et al. 2016). Sarnaselt ammooniumile nitriti kõrge sisalduse korral võib protsessi inhibeerima hakata FNA (vaba lämmastikushape-HNO₂). Sel juhul tuleb jälgida, et pH ei langeks liiga madalale. Nimelt sõltub vaba lämmastikushappe sisaldus pH-st, NO₂⁻ kontsentratsioonist ning temperatuurist Mida

madalam on temperatuur ja pH ning mida kõrgem on nitrit, seda kõrgem on FNA (Anthonisen et al. 1976).

1.4.2 pH mõju

Anammoks bakterite jaoks on sobivaim pH väärtus vahemikus 6,7- 8,3 (Strous et al. 1999). Liu. et al leidis, et optimaalne pH väärtus AAOB-de jaoks on 7.6, mille juures oli maksimaalne kasvumäär/kiirus 0,34- 0,38 d⁻¹ (T = 30 °C). Seega pH on oluline faktor, mis mõjutab otseselt anammoks bakterite aktiivsust ja populatsiooni. Eelnevalt mainitud inhibiitorid FA ja FNA sõltuvad pH-st, madal pH tõstab FNA sisaldust ning kõrge pH tõstab FA sisaldust. Optimaalne pH väärtus, mis kindlustab sobiva FA-FNA tasakaalu, asub vahemikus pH= 7,0 - 7,5 (Rikmann et al. 2018). FA ja FNA väärtuseid arvutakse allolevate valemite abil (valemid 1-4).

$$FA = \frac{17}{14} \times \frac{NH_4-N \times 10^{pH}}{\frac{K_b}{K_w} + 10^{pH}} \quad (1)$$

$$\frac{K_b}{K_w} = e^{\frac{6344}{273+T}} \quad (2)$$

$$FNA = \frac{47}{14} \times \frac{NO_2-N \times 10^{pH}}{K_a + 10^{pH}} \quad (3)$$

$$K_a = e^{-\frac{2300}{273+t}} \quad (4)$$

Valemities 1-4 tähistab FA vaba ammoniaagi (NH₃) ning FNA dissotsieerumata lämmastikushappe (HNO₂) kontsentratsiooni, vastavalt mg NH₃-N/l ja mg HNO₂-N/l. NH₄-N ja NO₂-N on vastavalt ammooniumlämmastiku ja nitritlämmastiku kontsentratsioonid (mgN/l). K_b on ammoniaagi aluseliseuse konstanti, K_a lämmastikushappe happelisuse konstant ning K_w vee ionkorrutis. Temperatuur on tähistatud t-ga (°C) (Anthonisen et al. 1976).

1.4.3 Lahustunud hapniku mõju

Kuna osa deammonifikatsiooniprotsessist toimub aeroobsetes, osa anoksilistes tingimustes, on protsessi läbiviimisel väga oluline optimaalne lahustunud hapniku sisaldus. Lahustunud hapniku sisaldus peab olema piisavalt kõrge, et tagada osaline nitritatsioon ja vältida nitritit oksüdeerivate bakterite (NOB) kasvu (Li and Sung. 2015). Samas ei tohi väärtus küündida

liiga kõrgele, vastasel juhul võib tekkida anammoks bakterite inhibitsioon hapniku poolt. Mitmed autorid on leidnud et protsessi jaoks sobivamaks lahustunud hapniku kontsentratsiooniks on $<0,5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ (Li and Sung, 2015; Lackner and Horn, 2012).

1.4.4 Temperatuur

Kõige optimaalsem temperatuur anammoks bakterite jaoks on 20-43 °C (Strous et al. 1999). Kõrgete ärastusefektiivsuste saavutamiseks opereeritakse anammoksil põhinevaid süsteeme vahemikus 25-40 °C, maksimaalne bakterite kasvukiirus saavutatakse 37 °C juures (Isaka et al. 2008). Temperatuuridel 45 °C ja rohkemgi toimub aga pöördumatu aktiivsuse langus ensüümide denatureerimise tõttu (Egli et al. 2001). Samas on tõestatud, et AAOB-d suudavad kohaneda temperatuuridega alla 20 °C, Persson et al. (2014) leidis, et järk-järgulisel temperatuuri vähendamisel 19 kraadilt 13 kraadile MBBR süsteemis põhjustas küll lämmastikuärastuse vähenemise, kuid süsteem jäi siiski stabiilseks.

1.4.5 Orgaaniline süsinik

AAOB-d on kemoautotroofsed mikroorganismid, kes ei vaja orgaanilist süsinikku, kuna kasutavad CO_2 või HCO_3^- ainsa süsinikallikana. Orgaanilist süsinikku kasutavad oma elutegevuseks aga heterotroofsed bakterid, mistõttu kõrge orgaanilise aine sisalduse korral hakkavad anammoks bakterid konkureerima heterotroofsete bakteritega. Sel juhul kasvavad heterotroofid tunduvalt kiiremini kui autotroofsed anammoks bakterid, mistõttu hakkavad heterotroofsed bakterid elimineerima anammoks baktereid ning seeläbi ka vähendama anammoks bakterite poolt läbiviidavat lämmastikuärastust (Molineuvo et al. 2009). Kui C/N suhe on suur ei suuda anammoks bakterid konkureerida heterotroofsete denitriifitseerivate bakteritega, samas kui C/N suhe on väike, on eelis hoopis anammoks bakteritel (Xu et al. 2009). Kõige tõhusam viis heterotroofsete bakterite kasvu pärssimiseks ning kõrge lämmastikuärastuse tagamiseks ongi madal C/N suhe (Han et al. 2016). Efektive deammonifikatsiooni läbiviimiseks peaks sissevoolus KHT/ NH_4^+ -N suhe olema vähem kui 2.0-3.0 COD/gN (Lackner et al. 2014). Näiteks Ni et al. (2012) leidis, et kui KHT oli suurem kui 400 mg/l ja vastav KHT/N suhe 3,1 leidis aset AAOB-de vähenemine ning heterotroofsete denitriifitseerijate bakterite hulga suurenemine. Ka varasemalt on leitud et kui KHT ületab 300 mg/l või KHT/N suhe on suurem kui 2 siis viib see anammoks kolooniade vähenemisele (Chamchoi & Nitorisavut, 2007).

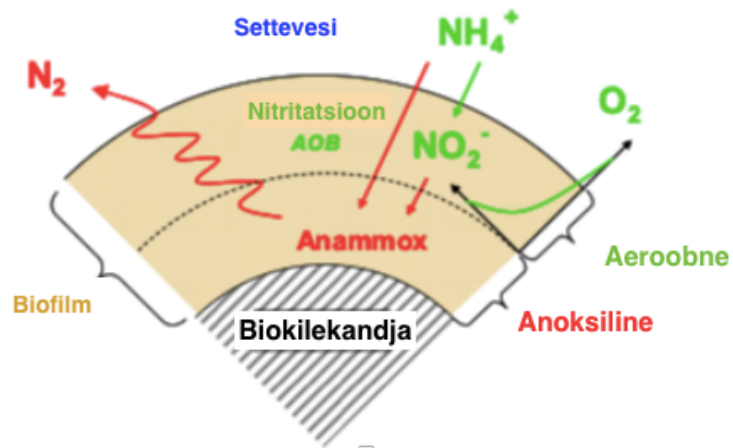
Teoreetiliselt on deammonifikatsiooniprotsessi lämmastikärastuse efektiivsus kuni 88%. Heterotroofsete denitriifitseerijate arvu hoolikas kontrolli all hoidmine võib aidata efektiivsust veelgi tõsta, eemaldades nitraatiooni mis tekib deammonifikatsiooniprotsessi lõpus (Zhang et al. 2017). Näiteks saavutas 94% lämmastikärastuse efektiivsuse Langone et al. (2016) tänu heterotroofsete denitriifitseerijate ja anammoks bakterite kooseksistentsile. Süsteemi nii peen optimeerimine on keeruline, mistõttu kasutatakse opereerimisel automaatikat ja erinevaid andureid. Kombineerides näiteks pH, hapniku kontsentratsiooni ja redokspotentsiaali põhists juhtimist on võimalik teha protsessis reaalajas muudatusi, et hoida pidevalt optimaalset stabiilsuspunkti protsessis.

1.5 MBBR süsteem ja biokilekandjad

Eelnevad Tartu Ülikoolis läbi viidud lämmastikärastustehnoloogia rakendusuuringud kinnitasid, et kõige potentsiaalsemaks tehnoloogiaks täismahus opereerimiseks on biokilekandjatega deammonifikatsioonisüsteem, detailsemalt ühereaktoriline vahelduva aeratsiooniga biokilereaktor. Nimelt näitasid need kõige stabiilsemaid tulemusi, olid lihtsamini opereeritavad ning saavutasid kõige kõrgemaid lämmastikärastusekiiruseid (Rikmann et al. 2018). Ühtlasi on üheetapilise reaktori rajamis- ja opereerimiskulud väiksemad kui kaheetapilisel. Suureks eeliseks biokilekandjatele kinnitunud bakterite puhul on ohutum opereerimine ning kiirem setitamine, näiteks aktiivmudasüsteemides on oht väljavooluga kaotada osa väärtuslikust biomassist. Seetõttu soovitati samasugust tehnoloogiat ka täismahuliseks settevee käitluseks.

Deammonifikatsioonitehnoloogial töötav biokilepuhasti (MBBR- Moving Bed Biofilm Reactor) põhineb protsessil, kus kogu nitritatsioon ja anammoks protsess viiakse läbi liikuvate kandjate pinnale kinnitunud bakterites. Mehaanilise seguri abil hoitakse kandjaid pidevas liikumises. MBBR süsteemi kasutust soosib ka anammoks bakterite biomassi võime moodustada biokilet (Abma et al. 2006) Biokilekandjad võimaldavad protsessi viia läbi ühes reaktoris, kuna biokile aeroobsel välimisel kihil kasvavad AOB-d ning sisemisel anoksilises kihis AAOB-d. (joonis 1). Lihtsustatult toimub protsess nii, et välimisel ehk aeroobsel kihil asuvad ammooniumit oksüdeerivad bakterid (AOB) oksüdeerivad ammooniumiooni (NH_4^+) nitritiooniks (NO_2^-), kui sisemisel ehk anoksilistes tsoonis olevad anammoks bakterid tarbivad toodetud NO_2^- koos ülejäänud NH_4^+ -ga (Lemaire et al. 2014).

Et eelnevalt kirjeldatud biokile välja kujuneks, peab protsessi käivitamisel hoidma reaktoris lahustunud hapniku kontsentratsiooni madalal (Ekström. 2010). Lisaks peaksid efektiivse lämmastikuärastuse saavutamiseks kasutatavad biokilekandjad olema võimalikult suure eripinnaga, mis võimaldaks maksimaalse kokkupuute biokile ja settevee vahel.



Joonis 1. Väljakujuneva biokile sisemus üheetapilises deammonifikatsiooniprotsessis

2. Eksperimentaalne osa

Laboratoorsed uuringud teostati Tartu Ülikooli Keemia Instituudi kolloid- ja keskkonnakeemia õppetooli keskkonnaanalüüsi laborites. Analüüsitulemuste graafiliseks esitamiseks kasutati programmi MS Excel. Tööstusliku pilootseadme analüüse teostati perioodil 15.01.19-27.05.19, laboratoorse pilootseadme analüüse aga 19.03.19-27.05.2019.

2.1 Analüütilised mõõtmised

Lämmastikärastuse hindamiseks ja opereerimisotsuste tegemiseks võeti tööstuslikust seadmest proove iganädalaselt ning laboratoorsest seadmest keskmiselt kaks korda nädalas.

Analüüsiti $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, KHT kontsentratsioone, lisaks pH väärtust ning aeg-ajalt leeliselisust.

Tabel 1. Kasutatud määramismetoodikad ja aparatuur

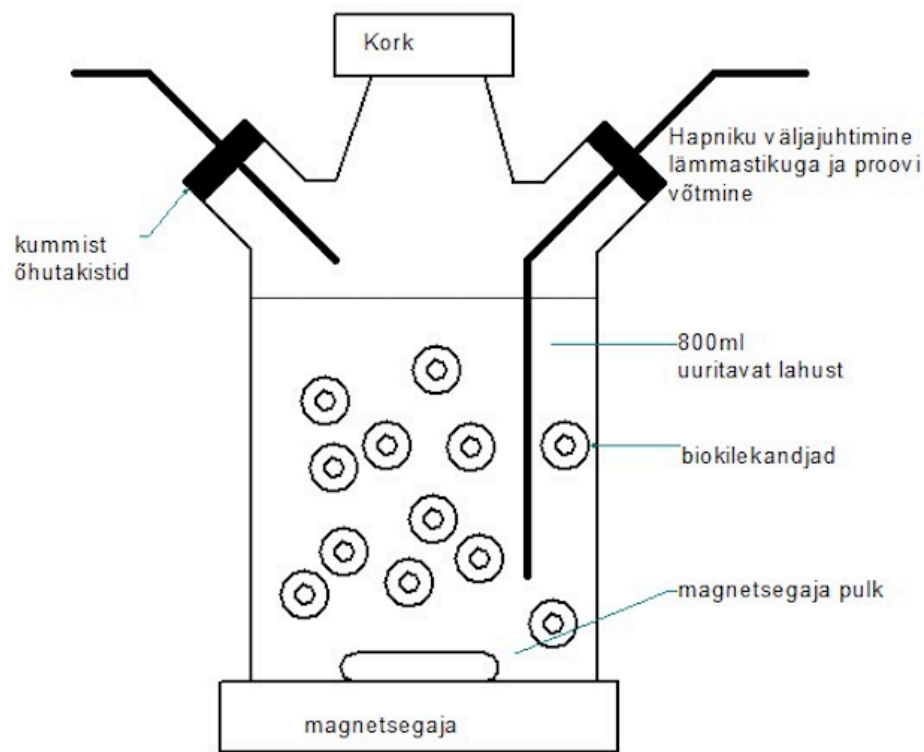
Parameeter	Meetod	Aparatuur
$\text{NH}_4^+\text{-N}$	USEPA 8038 – Nessleri meetod	Spektrofotomeeter: Hach Lange DR 2800
$\text{NO}_2\text{-N}$	SFS 3029 – asovärvaine kolorimeetriline määramine	Spektrofotomeeter: Hach Lange DR 2800
$\text{NO}_3\text{-N}$	SFS 5752 – kolorimeetriline määramine naatrium-salitsülaadi ja väävelhappega	Spektrofotomeeter: Hach Lange DR 2800
pH	Potentsiomeetriline määramine	pH meeter: Evikon E6115
Leelisus (HCO_3^-)	APHA 403- tiitrimine vesinikkloriidhappega	pH meeter: Evikon E6115
KHT	ISO 6060:1989- dikromaatne oksüdeeritavus	Spektrofotomeeter: Hach Lange DR 2800

2.2 Annustestide meetodika

Lämmastikärastuse kiiruse määramiseks teostati kahel korral annuskatseid. Katsed toimusid liitriise ruumalaga kahe kaelaga pudelites. Katsetes kasutatud sünteetilise reovee maht oli 800ml. Igasse pudelisse lisati 200 biokilekandjat, mis olid võetud MBBR süsteemist.

Pudelitesse lisati vastavad koostisosad:

- 1,6 ml NaNO₂
- 1,5 ml NH₄Cl
- 0,4 g H₂CO₃
- 1ml BHT toitelahus fosfaatpuhver
- 1ml BHT toitelahus MgSO₄*7H₂O
- 1ml BHT toitelahus CaCl₂
- 1ml BHT toitelahus FeCl₃*6H₂O
- 1ml aluseline mikroelementide lahus
- 1ml happeline mikroelementide lahus
- H₂O



Joonis 2. Annuskatsete skeem

Valmis reoveelahus suleti õhukindlalt korgiga ning deaereeriti 15 minutit N₂-ga. Lämmastikuga deaereerimine on vajalik selleks, et reoveelahusest välja saada kogu seal olev hapnik. Katse kestis kokku 24 tundi, katse alguses võeti nullproov, teised proovid võeti 2, 4, 6 ja 24 tunni möödudes. Määrati nitrit-, ammonium- ja nitraatlämmastiku kogused. Nende komponentide analüütilised meetodid on kirjeldatud eelnevas peatükis. Lisaks mõõdeti ka pH-d, mida vajadusel korrigeeriti. Igal proovivõtul võeti süsteemist 60 ml veeproovi. Katse jooksul asusid katsenõud termokapis, kus oli tagatud konstantne temperatuur 25 ± 0,5 °C. Katsenõus tagati alati ka lahuse homogeensus magnetsegaja abil, mille segamiskiirus oli 500 p/min.

2.3 Settevee omadused

Uuritud reoveepuhastusjaama settevees esineb periooditi suur muda osakaal, seda väljendab hästi kõrge keemiline hapnikutarve (KHT). Ka visuaalsel hinnangul ei ole settevesi läbipaistev ja kollane, vaid sisaldab anaeroobset muda. Tõenäoliselt on kõrged väärtused tingitud metaankääriti väljavoolu probleemsest veetustamisest, mille käigus ei suudeta kogu tahket osa polümeeri doseerimisele vaatamata veest eemaldada. Kuna settevesi sisaldab olulisel määral lahustunud orgaanilist süsinikku, siis võib see soosida heterotroofsete mikroorganismide ülemäärast kasvu, mis omakorda võib aeglustada deammonifikatsiooni läbiviiva bakterikoosluse kujunemist.

Tabel 2. Metaankääriti väljavoolu parameetrid pärast veetustamisprotsessi

Parameeter	Ühik	Keskmine väärtus	Koormus [kg/d]
NH ₄ ⁺ -N	mg/l	1031	206,2
NO ₂ ⁻ -N	mg/l	0,35	0,07
NO ₃ ⁻ -N	mg/l	1,5	0,3
Leelisus (HCO ₃ ⁻)	mmol/l	71	
pH		8,4	
KHT	mgO ₂ /l	950	190
Vooluhulk Q	m ³ /d	200	

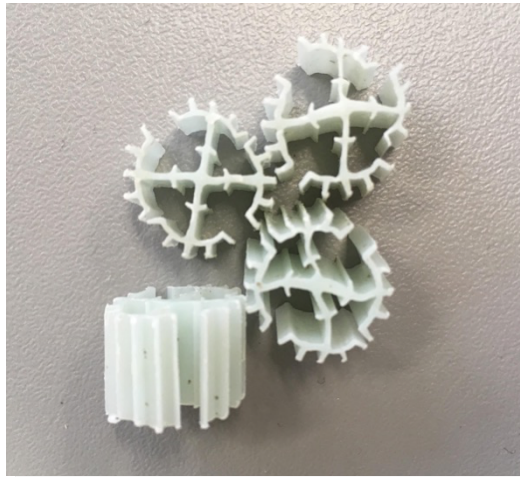
2.4 Tööstusliku pilootseadme kirjeldus

Settevee käitlemise kompleks rajati olemasolevasse nitritatsiooni kompleksi, mis jaguneb kolmeks mahutiks, millest üks on setteveehoiumahuti, teine protsessimahuti (460m³) ning kolmas väljavooluühtlustusmahuti. Protsess toimub annuspuhasti põhimõttel ning vastav tsükkel koosneb kolmes etapis – täitmine, protsess ja tühjendamine. Tsükkel võib olla 8, 4 või 2 tunnine.

Protsessimahutisse lisati uued aeratsioonimoodulid ning sukelsegur, mis peab tagama segamise anoksilistes etapis. Lisaks on paigaldati soojusvaheti, mille eesmärgiks on temperatuuri tagamine külmade ilmade või pikaajalise settetahenduse katkestusel. Soojusvaheti hoiab temperatuuri 20-30 °C vahel. Reaktor on varustatud hapniku-, temperatuuri- ja nivooanduriga.

Aeratsiooni reguleeritakse vastavalt O₂ anduri näidule, pH regulatsioon toimub vastavalt pH anduri näidule. Protsessi jälgimiseks reaalajas lisati redokspotentsiaali sensor, ammoniumiooni sensor ning ühine heljumi, nitrit- ja nitraatiooni sensor.

Protsessimahuti on täidetud biokilekandjatega (joonis 3.) Bioflow 9, mille eripind on 800m²/m³. Kandjate erikaal on 0,95, materjaliks PE ning mõõtmeteks 7x9mm. Mahutisse paigaldatakse mitmes osas kandjaid 200m³ mahus. Uuringuperioodi jooksul oli kandjaid 135m³ ulatuses.



Joonis 3. kasutusele võetud biokilekandjad

2.5 Laboratoorse seadme kirjeldus ja seadistamine.

Uuringus kasutati 20 liitrist pleksiklaasist reaktorit, mis 26.03 täideti täies mahus uuritava reoveepuhastusjaama setteveekäitluskompleksist pärinevate biokilekandjate ja setteveega. Kuna laboratoorse reaktori käivitamise hetkel oli tööstuslikus mahutis biokilekandjaid ca 34% kogu mahuti ruumalast, lisati neid reaktorisse samuti 34% mahuti ruumalast ehk 6,8 liitrit. Reaktor on varustatud vertikaalse seguriga (Assistent R50, Saksamaa), mille pöörete arvuks oli seadistatud 200 p/m. Temperatuuri püsis keskmiselt 22 ±0,8 °C juures. Aeratsiooniks paigaldati aeraator (Tetra APS 300), mille üle toimus kontroll ajapõhiselt. Sisse- ja väljavool reaktorist toimus käsitsi, kuna anammoks bakterite aktiivsus ei olnud piisavalt kõrge automaatse toitesüsteemi kirjeldamiseks. Sissevool kogu perioodi peale toimus vaid korra. Sissevooluks oli sama metaankääriti settevesi, mis toitis reoveepuhastusjaama deammonifikatsioonisüsteemi. Kuigi väljavoolu süsteemist automaatselt ei toimunud, pidi auramise kompenseerimiseks aeg-ajalt reaktorit kraani- või setteveega täitma.

3. Tulemused ja arutelu.

3.1 Takistused tööstusliku seadme opereerimisel

Piisava efektiivsuse tagamiseks on protsessimahuti vaja täita vähemalt 40-50% ulatuses biokilekandjatega. Käesoleval hetkel on protsessimahutis neid u 70% plaanitavast mahust. Biokilekandjate erikaal on 0.95, mis on väiksem kui vee erikaal. See tähendab, et need on veest kergemad ja tõusevad seetõttu pinnale. Hiljem muutuvad kandjad biokile ja mineraalainete kinnitumisel veega samasse erikaalu või raskemaks ning liiguvad seguri abil ringi kogu mahuti ulatuses. Biokilekandjate lisamisel uuritava reoveepuhastusjaama setteveekäitluskompleksi protsessimahutisse tekkis probleem, mis on edukat käivitust takistanud kogu uuringuperioodi jooksul. Nimelt tekkis lisamise tagajärjel veepinnale biokilekandjatest kõrge kiht, kus kandjad vee sees ujumise asemel veepinnal seisid (Joonis 4.).



Joonis 4. Biokilekandjate kuhjumine peale nende lisamist protsessimahutisse.

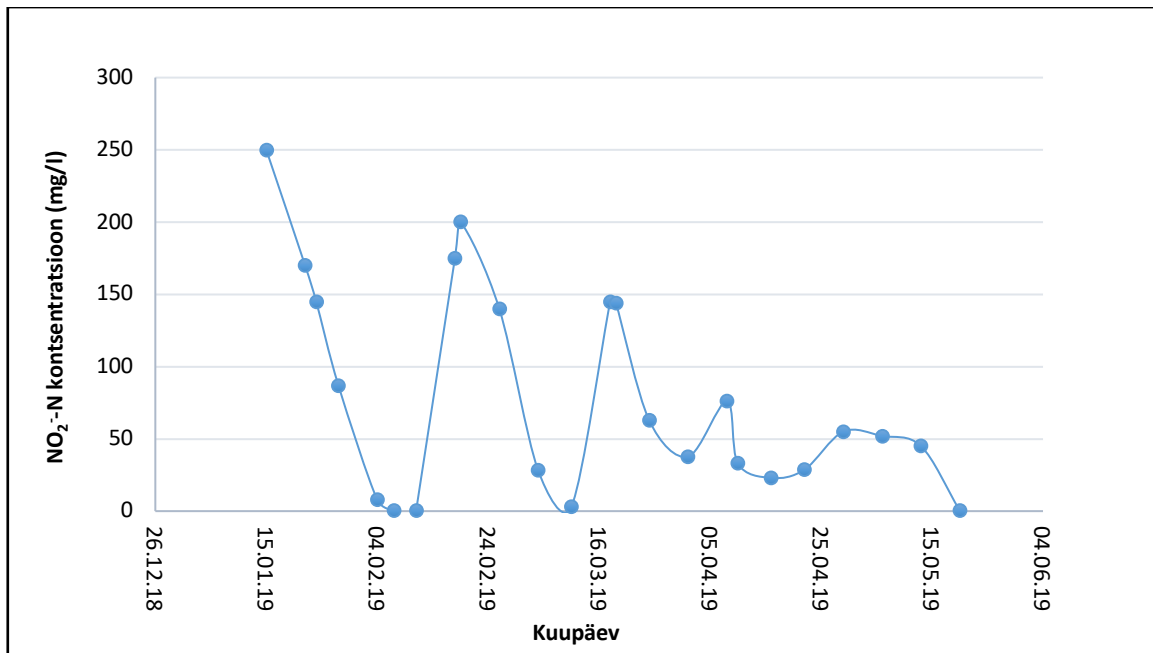
Kihi moodustanud kandjaid jäid üksteise külge kinni, moodustades omavahel tugeva struktuuri. Seetõttu polnud suurel osal kandjatest mingisugust kokkupuudet setteveega, et biokile kandjale üldse tekkida saaks. Probleemi lahendati vähehaaval kandjaid käsitsi vee sisse surudes või vett peale pumbates, kuid aeratsiooni käivitudes kerkis osa kandjatest jälle veest välja (Joonis 5.). Nii laboratoorses, kui ka pooltööstuslikus pilootuuringus antud situatsiooni ei tekkinud, mistõttu ei osatud kasutada ennetavaid meetmeid olukorra vältimiseks.



Joonis 5. Biokilekandjate kuhjumine protsessimahutis (2.5 kuud peale lisamist).

Teine oluline põhjus, miks käivitus pole veel nii edukas olnud on valdavalt tehniline. Kuna deammonifikatsioonisüsteem on väga tundlik ebasobivate keskkonnatingimuste suhtes, on opereerimisel erinevatel anduritel ja automaatikal väga suur roll. Käivitusperioodil on automaatika töös esinenud tõrkeid. Aeratsioonitsükkel pole toimunud nii nagu ettenähtud, on esinenud perioode kus protsessimahutit on aereeritud liigselt või pole aeratsioon üldse töötanud. Näitena võib tuua märtsi keskpaiga, kui võeti vastu ka otsus alustada laboratoorse seadme opereerimist just kõneletud probleemide tõttu. Sel perioodil oli aeratsioon liiga intensiivne, tõstes hapniku sisalduse kohati üle $5 \text{ mgO}_2 / \text{l}$ kohta (tavapärane hapnikusisaldus kuni $1 \text{ mgO}_2 / \text{l}$). 18. märtsil tehtud laborianalüüside põhjal, on näha, et seetõttu on ka nitriti kontsentratsioon liialt kõrge (145 mg/l). Sellest tulenevalt oli langenud ka pH, jäädes antud päeval 5,9 - 6,2 vahele. Kuna FNA väärtus sõltub pH-st ja nitritiooni kontsentratsioonist oli FNA sisaldus kõrge $80 \mu\text{g}$. On leitud, et FNA inhibeerivaks kontsentratsiooniks on (IC_{50}) on $1,5 \mu\text{g}$ (Fernandez et al. 2009). Sellised tingimused on anammoks bakteritele selgelt inhibeerivad ja käivitusperioodi pikendavad. Lisaks aeratsiooniga seonduvate probleemidele, ei ole toimunud ka pH regulatsiooni, millega oleks võimalik vältida FA/ FNA inhibitsiooni.

Laborianalüüsides on näha, et nitritiooni kontsentratsioonid on olnud mitmel korral $>100 \text{ mg/l}$ (Joonis 5.). Alates aprillist on tingimused nitritiooni osas paranenud ning NO_2^- näidud on stabiliseerunud, jäädes keskmiselt 30-60 mg/l vahemikku. See on saavutatud parema aeratsiooniperioodi ja hapnikusisalduse kontrolliga, mistõttu reaktoris enam liiga aeroobseid tingimusi tekkinud ei ole.



Joonis 5. Nitritiooni sisaldus setteveekäitluskompleksis uuringuperioodi (15.01.19-20.05.19) vältel.

3.2 Laboratoorse seadme opereerimine

Seoses kandjate iseloomu, automaatkarikete ja muude eelmises peatükis kirjeldatud probleemide tõttu, otsustati käivitusprotsessi paremaks jälgimiseks ning iseloomustamiseks alustada paralleelselt Tartu Ülikooli keskkonnaanalüüsi laboris sarnase mudelsüsteemi opereerimisega. Mudelina loodi üheastmeline deammonifikatsioonil põhinev biokiloreaktor (tehniline kirjeldus toodud alapeatükis 2.5), mida antud töö raames opereeriti manuaalselt (ilma andurite ja automaatikata) 62 päeva vältel. Mudelsüsteemi eesmärk oli jälgida, kas ilma täismahulise opereerimise juures tekkivate probleemideta on antud kandjad ja opereerimisparameetrid sobivad anammoksprotsessi käivituseks ja efektiivse lämmastikuärastuse saavutamiseks – vajadusel leida võimalikud probleemid ning üritada neid täismahulise protsessi juures vältida.

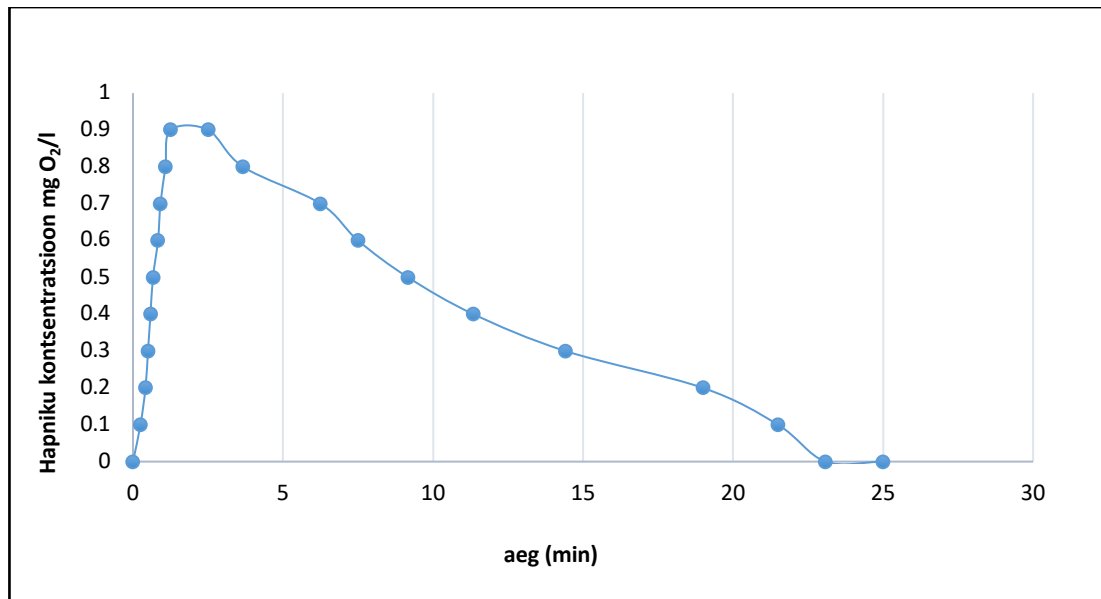
MBBR süsteem täideti reoveepuhastusjaama setteveekäitluskompleksist pärineva settevee ning biokilekandjatega. Lisati ainult neid biokilekandjaid, mis paiknesid protsessimahutis vee sees. Reaktorisse lisades kandjad pinnale ei kuhjunud, vaid jäid pinnale ujuma, nagu oli algselt plaanitud ka tööstusliku seadmega.

Liigse aeratsiooni tõttu oli reaktori käivitamise päeval (26.03) kompleksist pärineva settevee nitritiooni sisaldus ohtlikult kõrge (105 mg NO₂-N/l), mistõttu nitritlämmastiku sisalduse vähendamiseks aeratsiooni sisse ei lülitatud.

Erinevalt tööstuslikust seadmest, ei toimunud mehaanilise segamine pidevalt, vaid kindla ajavahemiku järgi. Nimelt esialgu töötas segur konstantselt, kuid lahtise ava ja segamise tõttu selgus, et segur aereerib mõnevõrra reaktorit, mistõttu toimus nitritiooni edasine akumulatsioon. Selle tulemusena oli järgneval päeval nitritlämmastiku sisaldus 115 mg/l. Sellest tulenevalt jäi seguri tööajaks uuringuperioodi lõpuni vaid 5 minutit, millele järgnes 115 minutit pausi. Antud režiimiga tagati reaktoris kandjate segunemine, kuid välditi liigset hapnikku sissekannet.

Nitriti sisalduse vähendamiseks lisati 8,3 g naatriumatsetaat-trihüdraati ehk kergesti lagunevat orgaanilist süsinikku. Orgaanilise süsiniku lisamise eesmärgiks oli viia läbi denitrifikatsioon, mis tavapärast ei ole deammonifikatsioonisüsteemis soovitud protsess, kuid oli sel hetkel nitritiooni inhibeeriva kontsentratsiooni vähendamiseks vajalik.

Nädal pärast opereerimise algust (02.04), kui nitritiooni sisaldus oli vähenenud 2,3 mg NO₂-N/l-ni lülitati sisse aeratsioon. Täpselt samasugust tsüklit, nagu oli setteveekäitluskompleksis planeeritud, st 10 minutit aeratsiooni ja 120 minutit pausi, ei olnud võimalik rakendada, kuna laboriseadme aeraator oli mudelseadme ruumala arvestades oluliselt võimsam, kui tööstusliku seadme oma. Eesmärgiks võeti hapnikusisalduse tõstmine aeroobsel perioodil ligikaudsele väärtusele 1 mgO₂/l ning piisavalt pika anoksilise perioodi saavutamine pärast hapnikusisalduse vähenemist. Esialgu osutus sobivaimaks tööajaks üks minut aeratsiooni iga nelja tunni tagant. Aeratsioon hakkas käima alati koos seguriga. 1 minutiga tõusis hapnikusisaldus 0,9 mg O₂ /l, anoksiline tsoon saabus keskmiselt 20-25 minutiga (Joonis 6.). Kontroll aeratsiooni üle toimus ajapõhiselt kellaga.



Joonis 6. Hapnikusisalduse muutus aereerimisel.

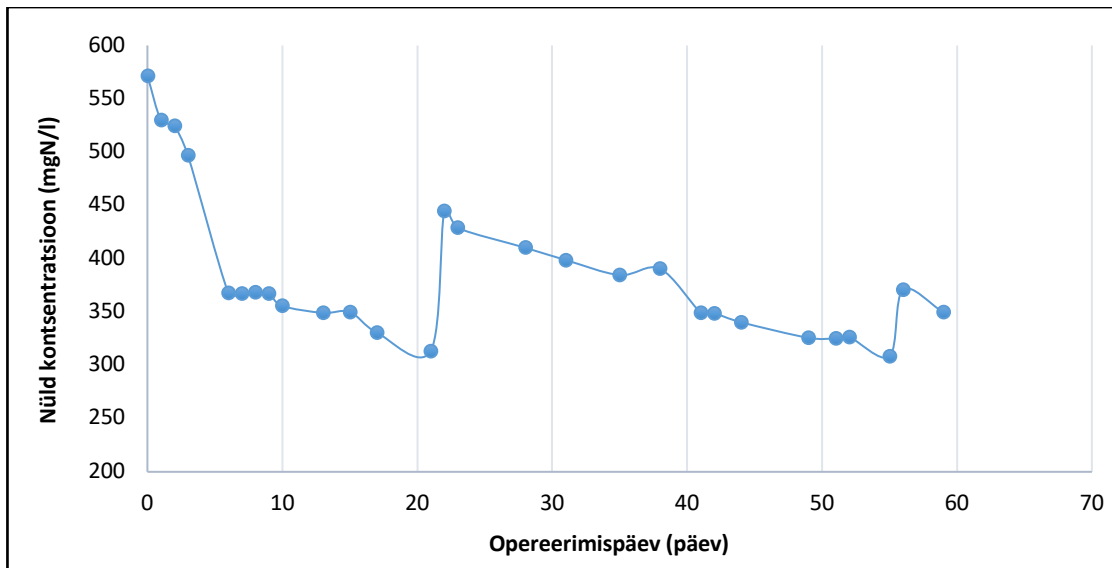
Aeratsioon lülitati välja uuesti 20.05 nitritiooni aeglase kuhjumise tõttu ning jäi kinni uuringuperioodi lõpuni. Põhjuseks oli nitritlämmastiku kontsentratsiooni tõus (56,6 mg/l), mis MBBR süsteemile võib mõjuda juba inhibeerivalt (Raudkivi et al. 2016)

pH-d reguleeriti manuaalselt soolhappe (HCl) doseerimisega ja hoiti vahemikus 7,5- 8,2.

Nagu eelnevalt mainitud, siis sissevool süsteemi toimus vaid kahel korral ja väljavoolu süsteemist ei toimunud. Juhul kui leelisust oli piisavalt ning ammooniumilämmastiku sisaldus kõrge, asendati paaril korral reaktorist auranud vee osakaal kraaniveega, et vältida toitainete kuhjumist ning pH tõusmist.

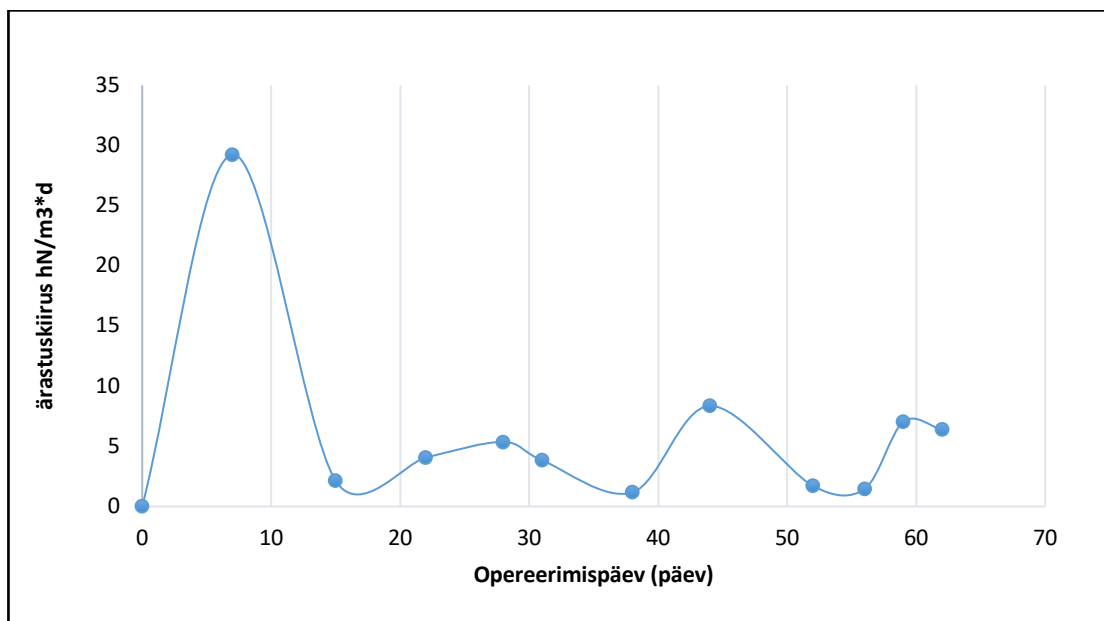
3.3 Opereerimise tulemused

Teostatud analüüside põhjal toimus laboratoorses reaktoris uuringuperioodi jooksul aeglane, kuid pidev lämmastiku vähenemine (Joonis 7.). Kõige suurem üldlämmastiku langus oli esimesel opereerimisnädalal, kui nädalaga langes 204,7 mgN/l. Kuid see protsess oli läbi viidud suure osas denitrifikatsiooni poolt, kuna mahutisse lisati NO₂⁻ vähendamiseks orgaanilist süsinikku. Kahel korral (22. ja 56. opereerimispäeval) lisati reaktorisse sissevoolu, mille tulemusena tõusis ka üldlämmastiku kontsentratsioon.



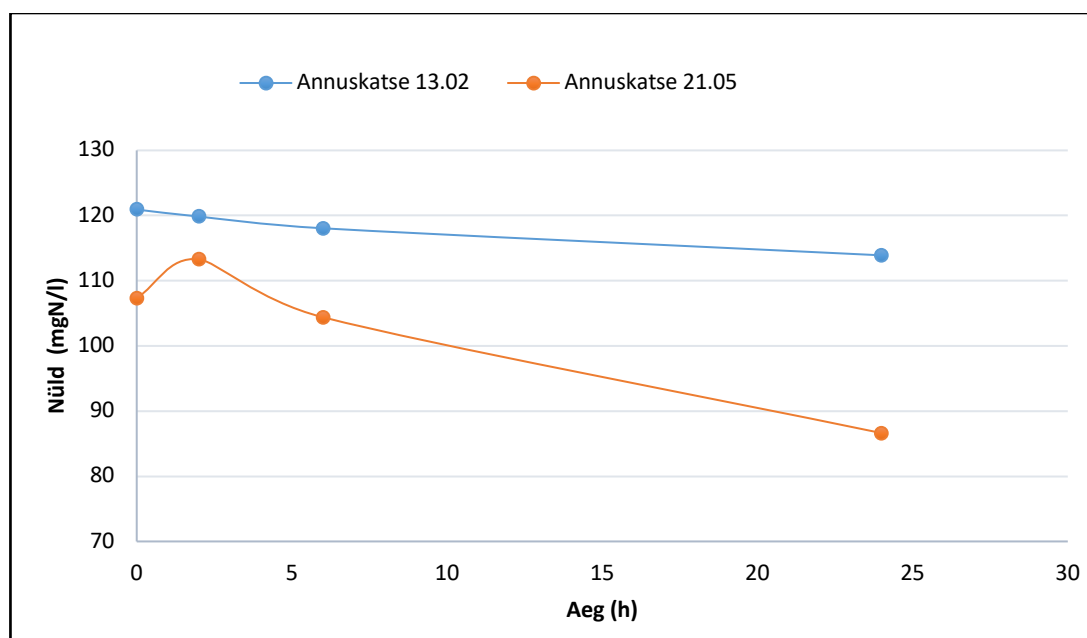
Joonis 7. Üldlämmastiku sisaldus laboratoorses reaktoris

Järgnevad 6 nädalat püsis lämmastikärastuse kiirus sarnases vahemikus ($1,7-8 \text{ gN}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$) ning ärastuse suurenemist märgata polnud. Kõige suurem lämmastiku ärastuskiirus saavutati kuuendal nädalal (joonis 8.), kui keskmiselt vähenes $8,3 \text{ gN}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, jättes arvestamata esimese nädalal saavutatud kiirusi. Üldjuhul ongi käivitamisel suurimaks probleemiks anammoks bakterite aeglane kasvukiirus, mis on ligikaudu 10-14 päeva (Strous et al. 1998). Deammonifikatsiooni pikk käivitusprotsess on seega oodatav. Täielik käivitamine võtab aega kuid, vahel ka aastaid, eriti kui biomass ise kasvatada (Lackner et al. 2015 ; Feng et al. 2017)



Joonis 8. Laboratoorse reaktori üldlämmastiku ärastuskiirus, seitsmendal päeval esinev kõrge ärastuskiirus on tingitud läbiviidud denitrifikatsiooniprotsessist

Bakterite aktiivsuse kontrollimiseks sooritati ka annuskatsed, kus 1-liitrisel katsepudelis mõõdeti lämmastikuärastust 24h pikkusel perioodil. Annustest tehti nii tööstuslikust süsteemist toodud kandjatega kui laboratoorse mudelreaktori kandjatega. 13.veebruaril tööstuslikust süsteemist pärit kandjatega tehtud annuskatsete tulemuste põhjal vähenes ööpäevaga üldlämmastik 6,6 mgN/l (joonis 9.). Nitrit- ja ammooniumiooni sisaldus ei muutunud, vähenes vaid nitraatioon, mille põhjal saab järeldada, et vähenemine toimus peamiselt läbi denitrifikatsiooni. 21. mail tehtud annuskatsete tulemused näitasid laboratoorsest seadmest pärinevate biokilekandjatega üldlämmastiku vähenemises pea kolmekordset kasvu, kui ööpäevaga vähenes 21 mgN/l.



Joonis 9. Üldlämmastiku kontsentratsioon 24h annuskatses

Toimus nii nitrit-, ammoonium- kui ka nitraatiooni vähenemine, vastavalt 17 mg/l, 2,3 mg/l ja 1,8 mg/l. Kuna ammooniumiooni kontsentratsioon saab anoksilistes tingimustes väheneda ainult anammoksi kaudu, näitab ka 21. mai annuskatsete tulemus, et anammoks bakterite kooslus on reaktoris kandjatele tekkimas ning paljunemas. Anammoksi käigus kasutatakse nitritiooni stöhhiomeetriliselt 1,32 korda rohkem kui ammooniumiooni, seega on üldiselt nitritiooni kontsentratsiooni suurem vähenemine oodatav. Antud katses vähenes nitritiooni kontsentratsioon aga oluliselt rohkem, mistõttu võib eeldada, et lisaks anammoksile on toimunud ka muu protsess. Nitritioon saab väheneda lisaks anammoksile veel kahe protsessi tulemusena – aeroobsetes oludes nitrifikatsiooni käigus oksüdeeritakse nitritioon

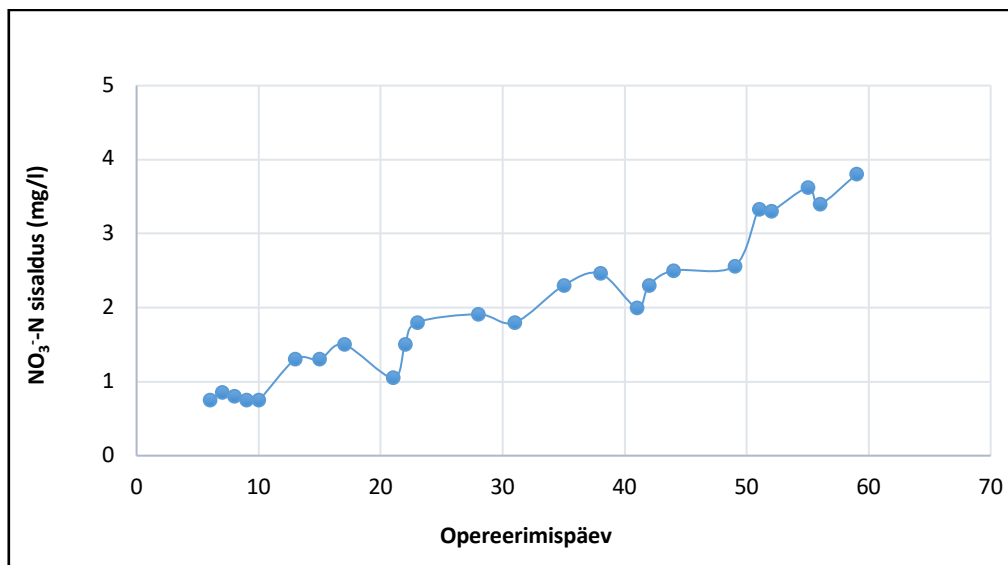
nitraatiooniks; anoksilistes oludes denitrifikatsiooni käigus redutseeritakse nitritiooni gaasiliseks lämmastikuks. Annuskatsetes välistati aeroobsete tingimuste võimalus pudeleid enne katse algust deaereerides, seetõttu pidi lisaks anammoksile toimuma nitritiooni vähenemine läbi denitrifikatsiooni. Tavapärasel denitrifikatsioonis on substraadiks aga nitraatioon, mille vähenemist oli näha 13. veebruari annuskatses, 21. mai katses nitraatlämmastik aga oluliselt ei vähenenud. Sellest võib eeldada, et lisaks anammoksbakteritele on laborireaktoris madala orgaanilise aine kontsentratsiooni tulemusena välja kujunenud bakterikooslus, kes viib eelistatuna läbi osalist denitrifikatsiooni, kasutades lähteainena nitritiooni. Ka teaduskirjanduses on varem näidatud eelistatud substraadi kasutamise alusel erinevaid denitrifitseerivate bakterite rühmasid. Üheks selliseks rühmaks on eksklusiivsed nitriti redutseerijad (Lu et al. 2014). Antud rühmal puudub vajalikud ensüümid nitraadi reduktaasiks, mistõttu pole need võimelised nitraatiooni redutseerima (Ramdhani & Bux, 2007).

Nitritiooni redutseerivate bakterite olemasolu on väljakujunevale anammoksprotsessile kasulik, kuna võimaldab kõrget nitritiooni kontsentratsiooni ning sellega kaasnevat inhibitsiooni vähendada. Kuna osaline denitrifikatsioon toimub vaid orgaanilise süsiniku piisava sisalduse korral, ei ole protsess reaktoris domineeriv ning ei konkureeri tavatingimustel anammoksprotsessiga. Kuigi reaktori sissevoolus on KHT kontsentratsioon olnud kõrge ($534 \text{ mgO}_2/\text{l} \pm 180$), on KHT/N suhe on jäänud sissevoolus kõigil korral alla 0,6, mistõttu ei tohiks heterotroofsetel bakteritel eelist olla. Lisaks tuleb arvestada, et metaankääriti väljavoolus moodustab suure osa KHT-st raskestilagunev süsinik, mida denitrifitseerivad bakterid metabolismis kasutada ei suuda. Seetõttu ei ole ka laboratoorses reaktoris aeratsiooni puudumisel sellisel määral nitritlämmastiku vähenemist märgatud nagu annuskatses. Reaktoris on vähenenud valdavalt ammooniumlämmastik, mis tähendab lämmastikarastus on toimunud siiski läbi deammonifikatsiooni.

Täpsemaks bakterikoosluse analüüsiks oleks vajalikud spetsiifilised mikrobioloogilised uuringud, mida antud töö raames ei teostatud – analüüsid on plaanis pärast anammoksprotsessi stabiilset käivitust. Siiski saab lämmastikuvormide vähenemise baasil eeldada, et bakterikooslus kahe annuskatse vahelisel ajal on muutunud.

Nitritit oksüdeerivate bakterite vähesust saab seletada ka madala nitraatlämmastiku sisaldusega laboratoorses reaktoris, mis omakorda ei soosi baktereid kes viivad denitrifikatsiooni läbi NO_3^- -st. Peale taotusliku denitrifikatsiooni läbiviimist on NO_3^- sisaldus on jäänud kogu perioodi

jooksul alla 5 mg/l kohta (Joonis 10.). Kogu uuringuaja jooksul on NO_3^- sisaldus kasvanud väga aeglaselt. Kuna NO_3^- on üks anammoksprotsessi saadustest (ligikaudu 12% lämmastikust oksüdeeritakse protsessi käigus nitraatiooniks), on NO_3^- -N kontsentratsiooni järkjärguline suurenemine samuti märk anammoksprotsessi käivitumisest.



Joonis 10. Nitraatlämmastiku kontsentratsioon mudelreaktoris uuringuperioodi jooksul.

Soovitud kooslust süsteemis täielikult saavutatud veel pole, kuid tulemustest on näha, et selektsioon töötab. Kuna anammoks bakter on väga aeglase kasvuga ning biomassi teke on väike, on vaja deammonifikatsiooni käivitamiseks veel aega. Sobivad tingimusi heterotroofsetele ja nitritit oksüdeerivatele bakteritele pole tagatud ja seega on oodata efektiivsuse tõusu järgnevatel kuudel. Sarnane aeg kulus ka eelnevatel Tartu Ülikooli töögrupi lämmastikuärastus uuringutel, kui deammonifikatsiooni käivituseks (üldlämmastiku ärastus >20%) MBBR süsteemis ilma ettekasvatatud biokilekandjatega kulus enam kui 100 päeva (Zekker et al. 2011).

Kuigi tööstuslikus pilootseadmes oli uuringuperioodi jooksul sageli inhibeerivad või ebasoodsad tingimused anammoks bakterite arenguks, viidi siiski läbi annuskatsed ka pilootseadme biokilekandjatega. 21. mail tehtud korduskatsed ei näidanud võrreldes 13. veebruaril (ööpäevane vähenemine 6,6 mg/l) tehtud annuskatsega suurt muutust. Üldlämmastik vähenes ööpäevaga 9,4 mg, kuid siiski peamiselt läbi denitrifikatsiooni, sest NH_4^+ -N kontsentratsioon vähenes 1mg/l. Kolme ja enam kuuga pole toimunud suurt arengut, kuid on näha, et väikeses süsteemis käivitus töötab ning liigub positiivses suunas. Mudel-reaktori

tulemused näitasid, et valitud biokilekandjad ja opereerimistingimused on sobivad. Kui tehnilised probleemid on lahendatud, peaks käivitus edukas olema. Lisaks kui stabiilsed tingimused saavutatakse juba suvekuude jooksul, on võimalus, et anammoks kooslus areneb välja kiiremini kui laboratoorses reaktoris. Nimelt kuna maikuu soojade ilmade tõttu tõusis temperatuur protsessimahutis 31 °C -ni, siis soosib see edasist anammoks bakterite kasvu. Anammoks bakterite maksimaalne kasvukiirus on 37°C juures (Isaka et al. 2008).

Kokkuvõte

Käesolevas bakalaureusetöös uuriti deammonifikatsiooni protsessi käivitamist olmereoveepuhasti metaankääriti settevee käitluseks. Probleemide tõttu tööstuslikus seadmes alustati paralleelselt laboratoorse reaktori opereerimist, et demonstreerida anammoks protsessi käivitust ilma inhibeerivate teguriteta. Selleks teostati kolme kuu jooksul regulaarselt laborianalüüse, mille tulemuste alusel reaktorit opereeriti. Opereerimisel pöörati enim rõhku sobiva aeratsioonitsükli rakendamisele, stabiilse nitritlämmastiku kontsentratsiooni hoidmisele ning pH väärtuse korrigeerimisele.

Ühtlasi leiti põhjused, miks deammonifikatsioon pole uuritavas reoveepuhasti settekäitluskompleksis käivitunud. Peamisteks põhjusteks osutuks biokilekandjate kuhjumine veepinnale ning tõrked automaatika töös. Kandjate kuhjumise tõttu polnud suurel osal kandjatel kokkupuudet setteveega, mistõttu oli kandjale biokile tekkimine takistatud. Vead juhtimissüsteemis, ei suutnud tagada stabiilseid tingimusi anammoks protsessi jaoks, olles mitmetel kordadel tugevalt inhibeerivad.

Kaheksanädalase mudelsüsteemi opereerimise jooksul olulist lämmastikärastuskiiruse suurenemist ei märgatud, kuid ärastus kogu perioodi peale oli siiski pidev. Suurim saavutatud lämmastikärastuskiirus oli 8,35 gN/m³d. Suuremat arengut näitasid mudelsüsteemi kandjatega teostatud annuskatsed. Kui 13. veebruaril teostatud annuskatsed NH₄⁺-N vähenemist ei näidanud, siis 21. mail tehtud katse põhjal vähenes NH₄⁺-N 2,3mg/l võrra, mis tõendas anammoks koosluse olemasolu. Lisaks eelnevale toimus uuringuaja jooksul mudelsüsteemis aeglane NO₃⁻-N sisalduse tõus. Kuna nitraatioon üks anammoksprotsessi saadustest, on selle järk-järguline suurenemine täiendav märk anammoksprotsessi käivitumisest. See-eest näitas nitraatiooni väga aeglane tõus, et nitritit oksüdeerivate bakterite limiteerimine on toimunud edukalt ning nitraatlämmastiku kuhjumist süsteemis ei toimunud.

Kuna anammoks bakterite kasvukiirus on väga aeglane, ei olnud nii lühikese aja jooksul võimalik häid kiiruseid saavutada. Kuid juba praeguste tulemuste juures on näha, et selektsioon töötab ning kiirem lämmastikärastus läbi anammoksi on oodatav. Mudelsüsteem demonstreeris, et antud biokilekandjate ja tingimustega on käivitus töötamas ning liigub edasi positiivses suunas. Kui tehnilised probleemid on lahendatud, peaks täismahus käivitus edukas olema.

Summary

The aim of this thesis was to analyze the start-up of deammonification process in one of Estonia's WWTP. Due to complications, a similar model in University of Tartu environmental analysis laboratory was put into operation to demonstrate the start-up of anammox process without inhibitory conditions. To achieve that regular analyzes were made and reactor was operated by these results. The emphasis was on maintaining stable nitrite concentration, finding suitable aeration pattern and adjustment of pH value.

The reasons why deammonification process had not originally been successful were also identified. The main reasons being; the accumulation of biofilm carriers on the surface of the water and errors in automatic control system. Due to a pile up of biofilm carries, most of the carriers did not have any contact with reject water and the further biofilm growth on carriers was hindered.

During the eight week operating period no substantial nitrogen removal rates were accomplished, but still constant removal of the nitrogen was achieved. The biggest achieved removal rate was 8,35 gN/m³. Better results were showed with batch tests. If tests made on 13th of February didn't show any decrease of ammonia, then decrease of ammonia were seen on batch tests made on 21st of May. The decrease of ammonia proved existence of anammox bacteria. In addition, a slow constant increase in nitrate took place. Since nitrate is one product of the anammox process, then the gradual increase of NO₃⁻ is also a sign of start-up of the deammonification process. At the same time a really slow increase showed that the limitation of NOB has been successful.

Since anammox bacteria has a really slow cell growth, it was not possible to achieve good nitrogen removal rates. But results already show that selection is working and higher nitrogen removal rates are expected. Also the model system demonstrated that with given biofilm carriers and conditions the start-up is functioning and is moving in a positive direction. If technical problems are solved, full-scale start up should be successful.

Kasutatud kirjandus

1. Ahn Y-H. (2006) Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. *Process Biochem.* 41,1709–1721.
2. Ali M., Okabe S. (2015) Anammox-based Technologies for nitrogen removal: Advances in process start-up and remaining issues. *J. Chemosphere.* 141, 144-153.
3. Anthonisen A.C., Loehr R.C., Prakasam T.B.S., Srinath E.G. (1976) Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *J. Water Pollut. Control Fed.* 48. 835-852.
4. Arrojo B., Mosquera-Corral A., Campos J.L, Méndez R. (2006) Effects of mechanical stress on Anammox granules in a sequencing batch reactor (SBR). *J. Biotechnol.* 123, 453–463.
5. Chamchoi N., Nitisoravut S. (2007) Anammox enrichment from different conventional sludges. *J. Chemosphere.* 66, 2225-2232.
6. Cheremisinoff NP. (1996) *Biotechnology for waste and wastewater*, pp. 155-165. Noyes Publications, New Jersey.
7. Dapena-Mora A., Fernández I., Campos J.L. et al. (2007) Evaluation of activity and inhibition effects on Anammox process by batch tests based on the nitrogen gas production. *Enzyme Microb Technol.* 40, 859–865.
8. Dosta J., Fernandez I., Vazquez-Padin J.R, Mosquera-Corral A., Campos J.L., Mata-Alvarez J. & Mendez R. (2008) Short- and long-term effects of temperature on the Anammox process. *Journal of Hazardous Materials.* 154, 688–693.
9. Egli K., Fanger U., Alvarez P.J.J., Siegrist H., Van der Meer J., Zehnder A.J.B., (2001) Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate, *Archives of Microbiology.* 175,198-207.
10. Feng Y., Lu X., Al-Hazmi H., Makinia J. (2017) An overview of the strategies for the deammonification process start-up and recovery after accidental operational failures, *J. Rev Environ Sci Biotechnol.* 16, 541-568.
11. Fernández I., Dosta J., Fajardo C., Campos J.L, Mosquera-Corral A, Méndez R. (2012). Short- and long-term effects of ammonium and nitrite on the Anammox process. *J. Environ. Manage.* 95,170–174.
12. Gut L., Płaza E., Hultman B. (2007) Assessment of a two-step partial nitrification/Anammox system with implementation of multivariate data analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.* 86, 26–34.

13. Han M., De Clippeleir H., Al-Omari A. (2016) Impact of carbon to nitrogen ratio and aeration regime on mainstream deammonification. *Water Sci Technol* 74,375-384.
14. Isaka K., Date Y., Kimura Y., Sumino T., Tsuneda S. (2008) Nitrogen removal performance using anaerobic ammonium oxidation at low temperatures *FEMS Microbiology Letters*. 282, 32-38.
15. Jeanningros Y., Vlaeminck S.E, Kaldate A., Verstraete W., Graveleau, L. (2010) Fast start-up of a pilot-scale deammonification sequencing batch reactor from an activated sludge inoculum, *Water Science & Technology*. 61,1393–1400.
16. Jin R-C., Yang G-F., Yu J-J, Zheng P. (2012) The inhibition of the Anammox process: A review. *Chemical Engineering Journal* 197, 67-79.
17. Kartal B., Kuenen JG., van Loosdrecht M.C.M (2010). Sewage treatment with anammox. *Science*. 328,702–703.
18. Kimura Y., Isaka K., Kazama F., Sumino T., (2010) Effects of nitrite inhibition on anaerobic ammonium oxidation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 86,359–365.
19. Kumar M., Lin JG. (2010) Co-existence of anammox and denitrification for simultaneous nitrogen and carbon removal strategies and issues. *J Hazard Mater*. 178,1–9.
20. Lackner S., Gilbert EM., Vlaeminck SE. et al. (2014) Full-scale partial nitrification/anammox experiences- an application survey. *Water Res* 55,292-303.
21. Lackner S., Thoma K., Gilbert E.M. et al (2015) Start-up of a full scale deammonification SBR-treating effluent from digested sludge dewatering. *Water Sci Technol* 71, 553-559
22. Lackner, S., and Horn, H. (2012) Evaluating operation strategies and process stability of a single stage nitrification–anammox SBR by use of the oxidation–reduction potential (ORP). *Bioresour. Technol*. 107, 70–7.
23. Langone M., M.Ferrentino, Cadonna M., Andreottola G. (2016) Stoichiometric evaluation of partial nitrification, anammox and denitrification processes in a sequencing batch reactor and interpretation of online monitoring parameters. *Chemosphere* 164,488–498.
24. Lemaire R., Ekström S., Chauzy J., Thornberg D., Thirsing C. (2014) 1-stage Deammonification MBBR process for reject water sidestream treatment: investigation of start up strategy and carriers design.

25. Li, X., and Sung, S. (2015). Development of the combined nitrification–anammox process in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor with anammox granules. *Chem. Eng. J.* 281, 837–843.
26. Lu H., Chandran K., Stensel D. (2014) Microbial ecology of denitrification in biological wastewater treatment. *Water Research.* 64, 237-254.
27. Molinuevo B., García M.C, Karakashev D., Angelidaki I. (2009) Anammox for ammonia removal from pig manure effluents: effect of organic matter content on process performance. *Bioresour Technol.* 100, 2171-2175.
28. Persson F., Sultana R., Suarez M., Hermansson M., Plaza E. & Wilen B.M (2014) Structure and composition of biofilm communities in a moving bed biofilm reactor for nitrification-Anammox at low temperatures. *Bioresource Technology.* 154,267-273.
29. Rajagopal R, Massé DI, Singh G. (2013) A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresour Technol.* 143, 632–641.
30. Ramdhani N., Bux F. (2007) Functional characterization of heterotrophic denitrifying bacteria in activated sludge. *South African Journal of Science.* 103, 113-116.
31. Raudkivi M., Zekker I., Rikmann E., Vabamäe P., Kroon K., Tenno T. (2016) Nitrite inhibition and limitation – the effect of nitrite spiking on anammox biofilm, suspended and granular biomass. *Water Science & Tehvology.*
32. Rikmann E., Zekker I., Tenno T., Saluste A., Tenno T. (2018) Inoculum-free start-up of biofilm- and sludge-based deammonification systems in pilot scale. *Int J. Environ. Sci. Technolol.* 15,133-148
33. S. Ekström (2010) N₂O production in a single stage nitrification/Anammox MBBR process; Master's Thesis, Lund University, Water and Environmental Engineering, Department of Chemical Engineering.
34. Szatkowska B, Plaza E., Trela J., Hultman B., Bosander J. (2007) Combined partial nitrification and Anammox biofilm system as a sustainable solution for supernatant treatment. *Water Practice and Technology.*
35. Strous M., Heijnen J.J, Kuenen J.G., Jetten M.S.M. (1998) The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology.* 50, 589– 596.
36. Strous M., Kuenen J.G., Jetten M.S.M.,(1999) Key physiology of anaerobic ammonia oxidation *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 65, 3248-3250.
37. Zekker I., Rikmann E., Tenno T., Menert A., Lemmiksoo V., Saluste A., Tenno T., Tomingas M. (2011) Modification of nitrifying biofilm into nitrifying one by

- combination of increased free ammonia concentrations, lowered HRT and dissolved oxygen concentration, *Journal of Environmental Sciences*. 23, 1113–1121.
38. Zhang F, Peng Y, Miao L et al. (2017) A novel simultaneous partial nitrification Anammox and denitrification (SNAD) with intermittent aeration for cost-effective nitrogen removal from mature landfill leachate. *Chem Eng J*. 313,619–628.
 39. T. Tenno. (2013) Efektiivse autotroofse lämmastikuärastuse tehnoloogia rakendusuuring“, SA Keskkonnainvesteeringute Keskuse projekt 1187 Aruanne 33-35.
 40. Van de Graaf A., de Bruijn P., Robertson L.A., Jetten M.S.M., Kuenen J.G. (1996) Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology*. 142, 2187–2196.
 41. van der Star W.L.R, Abma W.R, Blommers D., Mulder J-W., Tokutomi T., Strous M., Picioreanu C., Van Loosdrecht M.C.M. (2007) Startup of reactors for anoxic ammonium oxidation: experiences from the first full-scale anammox reactor in Rotterdam. *Water Res*. 41, 4149-4163.
 42. Van Hulle S.W.H, Vandeweyerb H.J.P., Meesschaert B.D., Vanrolleghem A., Dejansb P., Dumoulinb A. (2010) Engineering aspects and practical application of autotrophic nitrogen removal from nitrogen rich streams. *J. Chemical Engineering Journal*. 162, 1–20.
 43. Werther J., Ogada T. (1999) Sewage sludge combustion. *Prog. Energy Combust. Sci*. 25, 55-116.
 44. Xu GM., Yang ZH., Cao M., Sun H.S, Ji LL., Chen Y. (2009) Biological treatment of landfill leachate with the integration of partial nitrification, anaerobic ammonium oxidation and heterotrophic denitrification. *Bioresour Technol*. 101,79-86.

Tänuavaldused

Autor soovib lisaks tänada inimesi, kes aitasid kaasa käesoleva bakalaureusetöö valmimisele :

Anne Paaver

Anni Mandel

Ivar Zekker

Kati Klein

Kristel Kroon

Veiko Hein

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Maarja- Liis Salumäe,

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) minu loodud teose „**Deammonikatsiooni protsessi käivitamine olmereoveepuhasti metaankääriti settevee lämmastikuärastuseks**“ mille juhendajateks on **Markus Raudkivi, Taavo Tenno ja Erik Mölder**, reprodutseerimiseks eesmärgiga seda säilitada, sealhulgas lisada digitaalarhiivi DSpace kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
2. Annan Tartu Ülikoolile loa teha punktis 1 nimetatud teos üldsusele kättesaadavaks Tartu Ülikooli veebikeskkonna, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace kaudu Creative Commons'i litsentsiga CC BY NC ND 3.0, mis lubab autorile viidates teost reprodutseerida, levitada ja üldsusele suunata ning keelab luua tuletatud teost ja kasutada teost ärieesmärgil, kuni autoriõiguse kehtivuse lõppemiseni.
3. Olen teadlik, et punktides 1 ja 2 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
4. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei riku ma teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse õigusaktidest tulenevaid õigusi.

Maarja-Liis Salumäe
02.06.2019