

**ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
NATIONAL TECHNICAL UNIVERSITY OF ATHENS**



**ΔΙΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ – ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΠΙΣΤΗΜΗ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΥΔΑΤΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ»**

Επίδραση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηρίων

Βέρα Χαραλάμπους

Επιβλέπων: Κωνσταντίνος Νουτσόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής

Αθήνα, Ιούνιος 2021

Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία διεκπεραιώθηκε στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου κατά το ακαδημαϊκό έτος 2020 - 2021. Θα ήθελα, αρχικά, να ευχαριστήσω τον κ. Κωνσταντίνο Νουτσόπουλο, Αναπληρωτή Καθηγητή της Σχολής Πολιτικών Μηχανικών, για την ανάθεση της εργασίας και για την καθοδήγησή του κατά την εκπόνησή της, όπως επίσης και για τη συνεχή βοήθειά του καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Υποψήφιο Διδάκτορα Δημήτρη Ανδρεαδάκη για τη σημαντική συνεισφορά και τη στήριξή του κατά την υλοποίηση της παρούσας εργασίας.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη του εργαστηρίου, Μαριάννα Γιολδάση και Νίκο Κουρή, και την Υποψήφια Διδάκτορα Σταυρούλα Καππά για την βοήθειά τους στο χώρο του εργαστηρίου.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στη συμφοιτήτριά μου Ουρανία Καλοπίση Λόντου με την οποία συνεργαστήκαμε άψογα τόσο κατά την υλοποίηση της εργασίας, όσο και κατά την συγγραφή της, και η οποία υπήρξε σημαντικό στήριγμα για εμένα όλο αυτό το διάστημα.

Αθήνα, Ιούνιος 2021

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει σαν στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων.

Ο φώσφορος και το άζωτο, αν και αποτελούν θρεπτικές ουσίες απαραίτητες για τους οργανισμούς, όταν βρίσκονται σε περίσσεια μπορούν να επιδεινώσουν την οικολογική κατάσταση ενός υδάτινου σώματος, προκαλώντας φαινόμενα ρύπανσης. Ως εκ τούτου, η απομάκρυνσή τους στις Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ) πριν τη τελική διάθεσή τους στο υδάτινο περιβάλλον είναι απαραίτητη. Η εφαρμογή βιολογικών μεθόδων για την επεξεργασία τους κερδίζει έδαφος τα τελευταία χρόνια, καθώς αποτελεί μια οικονομική, αποτελεσματική και περιβαλλοντικά φιλική οδό.

Η βιολογική μέθοδος που χρησιμοποιείται συνήθως για την απομάκρυνση του αζώτου είναι η οδός της νιτροποίησης – απονιτροποίησης. Παρ' όλα αυτά, η εφαρμογή της πιο σύντομης οδού, δηλαδή της νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης, είναι πολύ υποσχόμενη, εφόσον εξοικονομεί οξυγόνο, άνθρακα και κόστος. Όσον αφορά το φώσφορο, η βιολογική απομάκρυνση του γίνεται από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια, τα οποία είναι σε θέση να προσλαμβάνουν οργανικές ενώσεις εκλύοντας φώσφορο υπό αναερόβιες συνθήκες και να δεσμεύουν φώσφορο, οξειδώνοντας τις αποθηκευμένες οργανικές ουσίες, παρουσία αποδέκτη ηλεκτρονίων. Οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι σε θέση να απονιτρωδοποιούν, οπότε είναι εφικτός ο συνδυασμός της νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης με την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Από την άλλη, η εφαρμογή της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου ενδέχεται να παρουσιάσει αστοχία, κυρίως λόγω τοξικών ουσιών που επηρεάζουν τη συμπεριφορά των πολυφωσφορικών βακτηριδίων ή των ανταγωνισμό τους με άλλα βακτήρια. Άρα, η κατανόηση της δράσης τους είναι πολύ σημαντική.

Σε αυτά τα πλαίσια, αναπτύχθηκαν και μελετήθηκαν πολυφωσφορικά βακτηρίδια στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του Ε.Μ.Π. σε έναν αντιδραστήρα εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας (SBR), όπου χρησιμοποιήθηκε βιομάζα από την ΕΕΛ στη Ψυττάλεια. Ο αντιδραστήρας λειτούργησε από τις 16 Σεπτεμβρίου 2020 μέχρι τις 25 Απριλίου 2021 και τροφοδοτείτο καθημερινά με στραγγίδια προερχόμενα από τη μονάδα αφυδάτωσης, η οποία βρίσκεται κατάντη της αναερόβιας χώνευσης στην αντίστοιχη γραμμή λύσης. Τα στραγγίδια αυτά περιέχουν υψηλό φορτίο αζώτου και φωσφόρου και επανακυκλοφορούν στο βιολογικό αντιδραστήρα, αυξάνοντας το φορτίο των θρεπτικών στον αντιδραστήρα. Αυτό μπορεί να επηρεάσει τις βιολογικές διεργασίες των μικροοργανισμών και ίσως οδηγήσει σε αστοχία του συστήματος, γι' αυτό κρίνεται απαραίτητη η επεξεργασία τους σε ξεχωριστή γραμμή στραγγιδίων. Η φόρτιση του συστήματος ξεκίνησε από τα $0.061 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ και έφτασε μέχρι τα $0.155 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$.

Τα λειτουργικά χαρακτηριστικά του αντιδραστήρα SBR ρυθμίστηκαν ώστε να ευνοηθεί η ανάπτυξη πολυφωσφορικών βακτηριδίων με δυνατότητα απονιτροδοποίησης (DPAOs). Τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια που καλλιεργήθηκαν, ανέπτυξαν ικανοποιητικές ταχύτητες αερόβιας και ανοξικής πρόσληψης φωσφόρου και καλή απονιτροδοποιητική ικανότητα. Η ομαλή λειτουργία του συστήματος ελεγχόταν σε καθημερινή βάση, ενώ διερευνήθηκε η δράση της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος, δηλαδή των τοξικών μορφών της αμμωνίας και των νιτρωδών, αντίστοιχα, στην ανοξική συμπεριφορά των πολυφωσφορικών βακτηριδίων. Το ελεύθερο νιτρώδες οξύ έχει ήδη αποδειχθεί ανασταλτικό στην δράση των DPAOs σε προηγούμενη εργασία, χωρίς να έχει όμως προσδιοριστεί ο μηχανισμός αναχαίτισης, ενώ η επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας δεν έχει ακόμα ερευνηθεί.

Εκτελέστηκαν πειράματα ασυνεχούς ροής (batch) για $\text{pH} = 8$ και συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου $\text{NH}_4\text{-N} = 70 - 240 \text{ mg/L}$ (αντίστοιχες συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας $\text{NH}_3\text{-N} = 7.4 - 25.8$) και για $\text{pH} = 8.5$ και συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου $\text{NH}_4\text{-N} = 140 - 260 \text{ mg/L}$ (αντίστοιχες συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας $\text{NH}_3\text{-N} = 5.1 - 9.6$), όπου προσδιοριζόταν ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά

βακτήρια (PUR) παρουσία ή μη αμμωνιακού αζώτου, βάση του οποίου προέκυπτε ο βαθμός αναχαίτισης της απομάκρυνσης φωσφόρου.

Από τα πειράματα αυτά, επιβεβαιώθηκε ότι η ελεύθερη αμμωνία ήταν ο ανασταλτικός παράγοντας στην ανοξική δέσμευση φωσφόρου. Η συσχέτιση μεταξύ του βαθμού αναχαίτισης και της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας περιγράφεται με λογαριθμική καμπύλη. Δεν φάνηκε να επηρεάζεται ο αναερόβιος ρυθμός κατανάλωσης COD των πολυφωσφορικών βακτηριδίων, ούτε η αναερόβια έκλυση φωσφόρου από την παρουσία της ελεύθερης αμμωνίας. Επιπλέον, η συμπεριφορά της ανοξικής δέσμευσης φωσφόρου συγκρίθηκε με την αερόβια δέσμευση φωσφόρου από προηγούμενες εργασίες και αποδείχθηκε ότι οι δύο ρυθμοί πρόσληψης παρουσιάζουν αντίστοιχη ευαισθησία στην τοξικότητα της ελεύθερης αμμωνίας. Με την αύξηση της αμμωνιακής φόρτισης του συστήματος από τα $0.1 \text{ g/m}^3/\text{d}$ στα $0.155 \text{ g/m}^3/\text{d}$ ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου παρουσίασε αντίστοιχη μείωση κατά 50%, ενώ γενικά αποτελούσε το 35 – 40% του αντίστοιχου αερόβιου ρυθμού. Για συγκεκριμένη συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου, αυξανόμενου του pH σημειώνεται μεγαλύτερη αναχαίτιση, λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας.

Στη συνέχεια, υλοποιήθηκαν πειράματα για τον προσδιορισμό του μηχανισμού αναχαίτισης λόγω της ελεύθερης αμμωνίας και αντίστοιχα πειράματα για το ελεύθερο νιτρώδες οξύ. Η αναχαίτιση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στην δράση των DPAOs ακολουθεί ένα non – competitive μοντέλο. Η μαθητική περιγραφή του μοντέλου της αναχαίτισης της ελεύθερης αμμωνίας στη δράση των DPAOs περιγράφεται από ένα uncompetitive μοντέλο. Η σταθερά αναχαίτισης του μοντέλου αυτού ισούται με 10 mg/L και ταυτίζεται με την αντίστοιχη σταθερά αναχαίτισης των PAOs. Τέλος, αποδείχθηκε ότι τόσο το συμβατικό uncompetitive μοντέλο, όσο και το μοντέλο της Levenspiel (1980) δίνουν εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα για την περιγραφή του φαινομένου της αναχαίτισης.

Abstract

The present Diploma Thesis investigates the effect of free ammonia and free nitrous acid on the anoxic behavior of the Polyphosphate Accumulating Organisms (PAOs).

Phosphorus and nitrogen are essential nutrients for all living organisms, but when presenting in excess, they are known to worsen the ecological condition of a water body, causing severe pollution problems. Therefore, the removal of these elements in Wastewater Treatment Plants (WWTP) before their final disposal in the aquatic environment is necessary. The application of biological methods for their processing is becoming popular, since they are economical, efficient and environmentally friendly.

The biological method commonly used to remove nitrogen is the nitrification - denitrification pathway. Nevertheless, the implementation of the shortest route, nitritation - denitritation, is very promising, as it is beneficiary in regard to oxygen, carbon source and cost. Concerning phosphorus' biological removal, it is achieved by polyphosphate bacteria, which are able to take up organic substrate under anaerobic conditions with simultaneous phosphorus release, and to bind phosphorus, by oxidizing the stored organic matter, in the presence of an electron acceptor. These microorganisms have the ability of denitritation, so it is possible to combine nitritation - denitritation with biological phosphorus removal. On the other hand, the application of biological phosphorus removal may fail, mainly due to toxic substances that affect the activity of PAOs or their competition with other bacteria. Therefore, understanding their behavior is very important.

Following this purpose, a population of polyphosphate bacteria was developed and studied in the Laboratory of Sanitary Engineering of NTUA, in a Sequencing Batch Reactor (SBR) with mixed liquor from the WWTP of Psytalia. The reactor operated from 16 September 2020 until 25 April 2021 and was fed daily with reject water from dewatering unit, following conventional anaerobic digestion process from the respective sludge line. This reject water contains high concentrations of nitrogen and phosphorus and recirculates to the biological

reactor, increasing the nutrient load in the reactor. This can affect the biological processes of the microorganisms and may lead to system failure, so it is vital to treat it separately, prior to its recirculation. Ammonia load of the system started from 0.061 g NH₄-N/m³/d and reached up to 0.155 g NH₄-N/m³/d.

The functional characteristics of the SBR were adjusted to favor the growth of denitrifying polyphosphate accumulating organisms (DPAOs). The cultured bacteria developed satisfactory aerobic and anoxic phosphorus uptake rates and good ability of denitrification. The performance of the system was monitored on a daily basis, while the effects of free ammonia and free nitrous acid, the toxic forms of ammonia and nitrite respectively, on the anoxic behavior of polyphosphate bacteria were investigated. Free nitrous acid has already been shown to inhibit the anoxic activity of DPAOs in a previous study, but the mechanism of inhibition has not been determined, while the effect of free ammonia has not yet been investigated.

Batch experiments were performed for pH = 8 and ammonium nitrogen concentrations NH₄-N = 70 - 240 mg / L (corresponding free ammonia concentrations NH₃-N = 7.4 - 25.8) and for pH = 8.5 and ammonium nitrogen concentrations NH₄-N = 140 - 260 mg / L (corresponding concentrations of free ammonia NH₃-N = 5.1 - 9.6), where the anoxic phosphorus uptake rate (PUR) by polyphosphate bacteria was determined in the presence or absence of ammonium nitrogen, based on which the inhibition of phosphorus removal was calculated.

The results of these experiments confirmed that free ammonia was the inhibitor of phosphorus anoxic uptake. The correlation between the degree of inhibition and the concentration of free ammonia is described by a logarithmic curve. The rate of anaerobic COD consumption by the polyphosphate bacteria did not appear to be affected, nor did the anaerobic release of phosphorus, in the presence of free ammonia. In addition, the behavior of the anoxic PUR was compared with the aerobic PUR, which was investigated in previous studies and it was proved that the two uptake rates show a similar sensitivity to the free ammonia's toxicity. The increase of ammonia load of the system from 0.1 g/m³/d to 0.155

g/m³/d resulted to anoxic PUR's decrease by 50%, while the anoxic PUR was generally equal to 35 - 40% of the corresponding aerobic rate. For a certain ammonium concentration, greater inhibition was observed when pH was higher, due to the higher concentration of free ammonia.

In addition, experiments were performed to determine the inhibitive mechanism of free ammonia and free nitrous acid on DPAOs. Results indicate a non-competitive mode of inhibition of free nitric acid and an uncompetitive mode of inhibition of free ammonia. The inhibition constant of free ammonia's model is equal to 10 mg/L, identical to the corresponding inhibition constant of PAOs. It was proved that both the conventional uncompetitive model and the model of Levenspiel (1980) can satisfactorily describe the inhibition of free ammonia in DPAOS.

Περιεχόμενα

Κατάλογος Σχημάτων	xi
Κατάλογος Πινάκων	xiii
1 Εισαγωγή	1
2 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση	5
2.1 Εισαγωγή	5
2.2 Άζωτο στα λύματα	6
2.2.1 Μορφές αζώτου	6
2.2.2 Πηγές αζώτου	8
2.2.3 Βιολογική απομάκρυνση αζώτου	8
2.2.3.1 Νιτροποίηση – Απονιτροποίηση	9
2.2.3.2 Νιτρωδοποίηση – Απονιτρωδοποίηση	14
2.2.3.3 Ανοξική οξείδωση της αμμωνίας	16
2.2.4 Ελεύθερη αμμωνία (FA)	19
2.2.5 Ελεύθερο νιτρώδες οξύ (FNA)	25
2.3 Φώσφορος στα λύματα	31
2.3.1 Μορφές φωσφόρου	31
2.3.2 Πηγές φωσφόρου	32
2.3.3 Χημική απομάκρυνση φωσφόρου	32
2.3.3.1 Χημική κατακρήμιση φωσφόρου	33
2.3.3.2 Χημική προσρόφηση φωσφόρου	38
2.3.3.3 Ιοντοανταλλαγή	40
2.3.4 Βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου	42
2.4 Οργανισμοί εμπλεκόμενοι στην απομάκρυνση φωσφόρου	46
2.4.1 PAOs	46
2.4.2 DPAOs	51
2.4.3 GAOs	54
2.4.4 DGAOs	56
2.5 Παράγοντες αναχαίτισης της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου	57
2.5.1 Γενικά	57
2.5.2 pH	58
2.5.3 Θερμοκρασία	62
2.5.4 SRT – HRT	66
2.5.5 Οργανική τροφή	70
2.5.6 Ελεύθερη αμμωνία	77
2.5.7 Νιτρώδη – FNA	79
2.6 Αντιδραστήρας εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας (SBR)	84

3	Πειραματική Διαδικασία	87
3.1	Εισαγωγή	87
3.2	Αναλυτικές μέθοδοι	87
3.2.1	Μέτρηση ολικών και πτητικών στερεών (TSS – VSS)	87
3.2.2	Μέτρηση διαλυτού χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου (COD)	90
3.2.3	Μέτρηση αμμωνιακού αζώτου (NH ₄ -N)	92
3.2.4	Μέτρηση νιτρικού αζώτου (NO ₃ -N) και νιτρώδους αζώτου (NO ₂ -N)	94
3.2.5	Μέτρηση ορθοφωσφορικών	95
3.2.6	Μέτρηση pH, θερμοκρασίας και διαλυμένου οξυγόνου (DO)	96
3.3	Πειραματική διάταξη	97
3.3.1	Περιγραφή συστήματος	97
3.3.2	Λειτουργία συστήματος	99
3.3.3	Τροφοδοσία συστήματος	103
3.4	Πειράματα ασυνεχούς ροής (batch)	106
4	Αποτελέσματα	108
4.1	Εισαγωγή	108
4.2	Λειτουργία και παρακολούθηση συστήματος	109
4.2.1	Πορεία συστήματος	109
4.2.2	Φαινομενικό αερόβιο PUR	115
4.2.3	Ανοξική δράση πολυφωσφορικών βακτηριδίων	119
4.3	Διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας	121
4.3.1	Περιγραφή πειραμάτων	121
4.3.2	Αποτελέσματα πειραμάτων	129
4.3.2.1	Ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου	129
4.3.2.2	Επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας (FA)	132
4.3.2.3	Σύγκριση ανοξικής και αερόβιας αναχαιτίσης	137
4.4	Διερεύνηση του μηχανισμού αναχαιτίσης	139
4.4.1	Μοντέλο αναχαιτίσης	139
4.4.1.1	Γενικά	139
4.4.1.2	Εφαρμογή για τον προσδιορισμό του αναχαιτιστικού μηχανισμού	143
4.4.2	Περιγραφή πειραμάτων	144
4.4.3	Αποτελέσματα πειραμάτων	151
4.4.3.1	Αναχαιτίση λόγω ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA)	151
4.4.3.2	Αναχαιτίση λόγω ελεύθερης αμμωνίας (FA)	155
5	Συμπεράσματα	163
	Βιβλιογραφία	166
	Παράρτημα	188

Κατάλογος Σχημάτων

Σχήμα 2.1: Κύριες διεργασίες μετατροπής του αζώτου κατά τη λειτουργία μιας ΕΕΛ: (1,2) αποδόμηση του οργανικού υλικού, (3) αφομοίωση, (4,5) νιτροδοποίηση, (6) νιτρικοποίηση, (7) απονιτρικοποίηση, (8-10) απονιτροδοποίηση και (11) ανοξική οξειδωση αμμωνίας (Gustavsson et al., 2010).	7
Σχήμα 2.2: Ελεύθερη αμμωνίας συναρτήσει θερμοκρασίας και pH (Von Sperling et al., 2007)	19
Σχήμα 2.3: Μηχανισμοί επίδρασης της FA στο ενδοκυτταρικό pH (Liu et al., 2019)	25
Σχήμα 2.4: Μηχανισμός αναχαίτισης FNA (Zhou et al., 2011)	30
Σχήμα 2.5: Εφαρμογή χημικής κατακρήμνισης (Morse et al., 1998)	34
Σχήμα 2.6: Παραγωγή ιλύος συναρτήσει της συγκέντρωσης φωσφόρου στην εκροή (Μαμάης Δ., 2020)	35
Σχήμα 2.7: Δόση σιδήρου προς υπολειμματική συγκέντρωση φωσφόρου (Sedlak et al., 1999)	38
Σχήμα 2.8: (α) Αναερόβιος και (β) Αερόβιος μεταβολισμός των πολυφωσφορικών βακτηριδίων (Tarayre et al., 2016)	49
Σχήμα 2.9: Επίδραση του SRT και της θερμοκρασίας στην βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου και στην νιτροποίηση (Μαμάης Δ., 2020)	69
Σχήμα 2.10: Κύκλος λειτουργίας αντιδραστήρα SBR (Mahvi et al., 2008)	86
Σχήμα 3.1: Φούρνος 103-105°C	88
Σχήμα 3.2: Φούρνος 550°C	89
Σχήμα 3.3: Ζυγός ακριβείας (αριστερά) και Αφυγραντήρας (δεξιά)	89
Σχήμα 3.4: Συσκευή χώνευσης φιαλιδίων	91
Σχήμα 3.5: Φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός ορατού φωτός τύπου HACH DR2800	92
Σχήμα 3.6: Συσκευή απόσταξης τύπου BUCHI 314	93
Σχήμα 3.7: Μέτρηση αμμωνιακού αζώτου	94
Σχήμα 3.8: Μέτρηση ορθοφωσφορικών	96
Σχήμα 3.9: Οξυγονόμετρο οxi 330 (αριστερά) και pHμετρο 3110 (δεξιά)	97
Σχήμα 3.10: Αντιδραστήρας SBR	98
Σχήμα 3.11: Πειράματα batch	107

Σχήμα 4.1: Μηνιαία αμμωνιακή φόρτιση του συστήματος _____	111
Σχήμα 4.2: Διακύμανση PUR κατά την εκκίνηση του συστήματος _____	116
Σχήμα 4.3: Μηνιαίος αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου του συστήματος _____	117
Σχήμα 4.4: Διακύμανση PUR και φόρτισης NH ₄ -N _____	118
Σχήμα 4.5: Διακύμανση PUR και συγκέντρωσης NO ₂ -N _____	119
Σχήμα 4.6: Απονιτροδοποιητική ικανότητα dN _____	121
Σχήμα 4.7: Μεταβολή συγκέντρωσης PO ₄ -P _____	126
Σχήμα 4.8: Κλίση της μεταβολής της συγκέντρωσης των PO ₄ -P _____	128
Σχήμα 4.9: Ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου συναρτήσει αμμωνιακής φόρτισης του συστήματος _____	130
Σχήμα 4.10: Αερόβιος και ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου συναρτήσει της αμμωνιακής φόρτισης _____	131
Σχήμα 4.11: Αναχαίτιση ανοξικού ρυθμού πρόσληψης για pH = 8.5 και pH = 8 σε όρους αμμωνιακού αζώτου _____	134
Σχήμα 4.12: Αναχαίτιση ανοξικού ρυθμού πρόσληψης για pH = 8.5 και pH = 8 σε όρους ελεύθερης αμμωνίας _____	134
Σχήμα 4.13: Ανοξική αναχαίτιση πολυφωσφορικών βακτηριδίων λόγω ελεύθερης αμμωνίας _____	136
Σχήμα 4.14: Αναχαίτιση αερόβιου και ανοξικού ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου (PUR) λόγω ελεύθερης αμμωνίας (FA) _____	138
Σχήμα 4.15: Προσδιορισμός των βέλτιστων τιμών των παραμέτρων Km και V (Eisenthal et al., 1974) _____	141
Σχήμα 4.16: Επίδραση πειραματικών σφαλμάτων (Eisenthal et al., 1974) _____	141
Σχήμα 4.17: Μετατόπιση σημείου τομής για διάφορους μηχανισμούς αναχαίτισης (a) competitive (b) mixed (c) non – competitive (d) uncompetitive (Eisenthal et al., 1974) _____	142
Σχήμα 4.18: Μεταβολή συγκέντρωσης PO ₄ -P _____	148
Σχήμα 4.19: Κλίση της μεταβολής της συγκέντρωσης των PO ₄ -P _____	149
Σχήμα 4.20: Μεταβολή συγκέντρωσης PO ₄ -P για FNA = 0 μg/l _____	151
Σχήμα 4.21: Μεταβολή συγκέντρωσης PO ₄ -P για FNA = 1 μg/l _____	152
Σχήμα 4.22: Μεταβολή συγκέντρωσης PO ₄ -P για FNA = 3.1 μg/l _____	152

Σχήμα 4.23: Τιμές σταθεράς K_m^{app} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FNA	154
Σχήμα 4.24: Τιμή PUR_{maxapp} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FNA	154
Σχήμα 4.25: Μεταβολή συγκέντρωσης PO_4-P για $FA = 0 \text{ mg/l}$	156
Σχήμα 4.26: Μεταβολή συγκέντρωσης PO_4-P για $FA = 0 \text{ mg/l}$	156
Σχήμα 4.27: Μεταβολή συγκέντρωσης PO_4-P για $FA = 0 \text{ mg/l}$	157
Σχήμα 4.28: Τιμές σταθεράς K_m^{app} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FA	158
Σχήμα 4.29: Τιμές σταθεράς K_m^{app} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FA	158

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 2.1: Ρυθμός απομάκρυνσης οργανικού φορτίου και έκλυσης φωσφόρου κάτω από αναερόβιες συνθήκες (Μαμάης Δ., 2020)	71
Πίνακας 3.1: Σύγκριση PAOs και GAOs ως προς τον αποδέκτη ηλεκτρονίων και την πηγή τροφής (Oehmen et al., 2010a)	101
Πίνακας 3.2: Ημερήσια φόρτιση NH_4-N ανά μήνα λειτουργίας	104
Πίνακας 4.1: Λειτουργικές παράμετροι του συστήματος SBR	114
Πίνακας 4.2: Συνθήκες πειράματος	124
Πίνακας 4.3: Συγκέντρωση TSS και VSS κάθε περιέκτη	125
Πίνακας 4.4: Μεταβολή συγκέντρωσης NO_2-N (mg/L)	125
Πίνακας 4.5: Μεταβολή συγκέντρωσης PO_4-P (mg/L)	126
Πίνακας 4.6: Μεταβολή συγκέντρωσης COD (mg/L)	127
Πίνακας 4.7: Σύγκριση PUR_{apox}/PUR_{aer} με τιμές της βιβλιογραφίας	132
Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα πειραμάτων για $pH = 8$	133
Πίνακας 4.9: Αποτελέσματα πειραμάτων για $pH = 8.5$	133
Πίνακας 4.10: Σύγκριση συγκέντρωσης αναχαιτίσης παρούσας εργασίας με τη βιβλιογραφία	139

Πίνακας 4.11: Συνθήκες πειράματος	146
Πίνακας 4.12: Συγκέντρωση TSS και VSS κάθε περιέκτη	147
Πίνακας 4.13: Μεταβολή συγκέντρωσης PO ₄ -P (mg/L)	147
Πίνακας 4.14: Αποτελέσματα πειράματος	150
Πίνακας 4.15: Ανοξικά PUR των 3 πειραμάτων FNA	153
Πίνακας 4.16: Αποτελέσματα του αναχαιτιστικού μοντέλου του ελεύθερου νιτρώδης οξέος	153
Πίνακας 4.17: Ανοξικά PUR των 3 πειραμάτων FA	157
Πίνακας 4.18: Αποτελέσματα του αναχαιτιστικού μοντέλου της ελεύθερης αμμωνίας	158
Πίνακας 4.19: Στατιστικοί δείκτες μοντέλων αναχαιτίσης	162

1 Εισαγωγή

Τις τελευταίες δεκαετίες, λόγω των διάφορων ανθρωπογενών δραστηριοτήτων, όπως η εκβιομηχάνιση, η παγκόσμια αστικοποίηση και οι πρακτικές που εφαρμόζονται στη γεωργία, οι ποσότητες των λυμάτων που παράγονται είναι πολύ υψηλές. Η επαναλαμβανόμενη απόρριψη λυμάτων ελλείψει επαρκούς και κατάλληλης επεξεργασίας μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρά φαινόμενα ρύπανσης στα υδατικά συστήματα, προκαλώντας προβλήματα τόσο στην ποιότητα των υδάτινων σωμάτων, όσο και στους υδρόβιους οργανισμούς, επηρεάζοντας έμμεσα και τη δημόσια υγεία.

Οι Εγκαταστάσεις Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ), όντας βασική πηγή εισόδου των διαφόρων οργανικών και ανόργανων ουσιών που ενδέχεται να προσβάλλουν το περιβάλλον, είναι υπεύθυνες για την επιτυχημένη απομάκρυνσή τους. Η λειτουργία τους βασίζεται σε συνδυασμό φυσικοχημικών και βιολογικών διεργασιών, με στόχο την αφαίρεση ανεπιθύμητων ρυπαντικών ουσιών από τα λύματα. Ρυπαντικά φορτία αποτελούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί, διάφορες διαλυμένες οργανικές ενώσεις, οργανικά και ανόργανα αιωρούμενα στερεά και τα θρεπτικά συστατικά, ο φώσφορος και το άζωτο.

Όσον αφορά τα θρεπτικά συστατικά, θεωρούνται δυνητικοί παράγοντες για το φαινόμενο του ευτροφισμού, ο οποίος μπορεί να προκαλέσει αποξυγόνωση των υδάτινων σωμάτων, εμποδίζοντας τη διάδοση της ηλιακής ακτινοβολίας σε όλο το βάθος τους, οδηγώντας σε υπερανάπτυξη των αλγών, θάνατο των φωτοσυνθετικών οργανισμών παραγωγή διαφόρων ρύπων και, τελικά, εξάλειψη κάποιων ειδών του εκάστοτε οικοσυστήματος (Renuka et al., 2013). Τα μέγιστα όρια απόρριψης του ολικού αζώτου και του ολικού φωσφόρου σε έναν ευαίσθητο αποδέκτη είναι 10-15 mg/L και 1-2mg/L, αντίστοιχα, αναλόγως του πληθυσμού ενός οικισμού, όπως ορίζονται από την Οδηγία 91/271/ΕΟΚ.

Έτσι, η χρήση αποτελεσματικών μεθόδων επεξεργασίας λυμάτων με στόχο την απομάκρυνση του φωσφόρου και του αζώτου από τα λύματα, πριν αυτά διατεθούν στο

περιβάλλον, είναι αναγκαία. Οι βιολογικές μέθοδοι απομάκρυνσής τους είναι αποδοτικές, οικονομικές και περιβαλλοντικά φιλικές, γι' αυτό και προτιμάται η εφαρμογή τους σε μια ΕΕΛ. Βασίζονται στην ανάπτυξη των κατάλληλων μικροοργανισμών, μέσω των οποίων γίνεται η απομάκρυνσή τους.

Η διαδικασία επεξεργασίας σε μια μονάδα επεξεργασίας λυμάτων αποτελείται από την προ-επεξεργασία και τη πρωτοβάθμια επεξεργασία, όπου μέσω φυσικοχημικών μεθόδων γίνεται απομάκρυνση ογκωδών αντικειμένων, άμμου, λιπών, ελαίων και μερική απομάκρυνση του οργανικού φορτίου και των αιωρούμενων στερεών μέσω της καθίζησης, τη δευτεροβάθμια επεξεργασία, όπου, μέσω βιολογικών διεργασιών επιτυγχάνεται, αφενός, απομάκρυνση των θρεπτικών συστατικών και του οργανικού φορτίου στο βιολογικό αντιδραστήρα, και, αφετέρω, περαιτέρω απομάκρυνση στερεών μέσω της δευτεροβάθμιας καθίζησης και, τέλος, πριν τη τελική διάθεση των λυμάτων, πραγματοποιείται η απολύμανσή τους με στόχο την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών.

Η ιλύς που δημιουργείται στον πυθμένα της πρωτοβάθμια και της δευτεροβάθμιας καθίζησης της ΕΕΛ οδηγείται για επεξεργασία. Τυπικές μονάδες επεξεργασίας της αποτελούν η πάχυνση, η χώνευση και η αφυδάτωση. Η επεξεργασία στις μονάδες της πάχυνσης και της αφυδάτωσης αφορά τη συμπύκνωση της ιλύος και έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή υγρού, των στραγγιδίων, το οποίο επανακυκλοφορεί στην εγκατάσταση για επιπλέον επεξεργασία, καθώς δεν είναι σε θέση να διατεθεί αυτούσιο στο περιβάλλον. Ειδικά τα στραγγίδια αφυδάτωσης περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου και φωσφόρου, της τάξεως του 1.3 gTN/L και 72 mgTP/L, αντίστοιχα (Noutsopoulos et al., 2018). Η επανακυκλοφορία τους στην είσοδο της εγκατάστασης οδηγεί σε αύξηση του φορτίου της εγκατάστασης κατά 10 - 20%, το οποίο μπορεί να προκαλέσει διαταραχές στην απόδοση της εγκατάστασης, αστοχία στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών της και την εκτέλεση των βιολογικών διεργασιών τους και, τελικά, μη αποτελεσματική επεξεργασία των λυμάτων. Άρα, η δημιουργία μιας ξεχωριστής γραμμής επεξεργασίας στραγγιδίων πριν την

επανακυκλοφορία τους στο σύστημα θα μπορούσε να εμποδίσει την εμφάνιση τέτοιων προβλημάτων.

Η χρήση βιολογικών μεθόδων επεξεργασίας στα στραγγίδια είναι υποσχόμενη. Λόγω των υψηλών συγκεντρώσεων της αμμωνίας στα στραγγίδια, το δεύτερο στάδιο της νιτροποίησης ενδέχεται να ανασταλεί ως αποτέλεσμα της αναχαίτισης των βακτηρίων οξείδωσης νιτρωδών (NOBs). Έτσι, η πιθανή οδός απομάκρυνσης αζώτου είναι η νιτρωδοποίηση – απονιτρωδοποίηση. Μέσω ρύθμισης των συνθηκών του συστήματος, θα μπορούσε να επιτευχθεί ανάπτυξη πολυφωσφορικών βακτηριδίων με ικανότητα απονιτρωδοποίησης, κατάλληλων για την ταυτόχρονη απομάκρυνση του φωσφόρου και του αζώτου. Από την άλλη, τα υψηλά φορτία των νιτρωδών και της αμμωνίας μπορεί να αποβούν τοξικά και ανασταλτικά για τους διάφορους μικροοργανισμούς, είτε με τη μορφή του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA), είτε με τη μορφή της ελεύθερης αμμωνίας (FA).

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματεύεται την διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων. Η επίδραση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος έχει ήδη μελετηθεί σε προηγούμενη εργασία, χωρίς να έχει όμως προσδιοριστεί ο μηχανισμός αναχαίτισης, ενώ η επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας δεν έχει ακόμα ερευνηθεί. Για το σκοπό αυτό, καλλιεργήθηκαν πολυφωσφορικά βακτηρίδια σε ένα αντιδραστήρα εργαστηριακής κλίμακας SBR και πραγματοποιήθηκαν πειράματα batch για τη μελέτη του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου των πολυφωσφορικών βακτηριδίων σε διάφορες συγκεντρώσεις της ελεύθερης αμμωνίας. Επιπλέον, αφού επιβεβαιώθηκε ότι ο αναχαιτιστικός παράγοντας ήταν όντως η ελεύθερη αμμωνία, έγινε περαιτέρω διερεύνηση του μηχανισμού αναχαίτισής της, καθώς και διερεύνηση του μηχανισμού αναχαίτισης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Η διάρθρωση που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

Στο κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση σχετικά με την απομάκρυνση του αζώτου και του φωσφόρου από τα λύματα, δίνοντας έμφαση στα είδη

των πολυφωσφορικών βακτηριδίων που συμμετέχουν στη βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου και στους παράγοντες που επιδρούν σε αυτήν.

Στο κεφάλαιο 3 περιγράφεται η πειραματική διάταξη του αντιδραστήρα SBR που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων, καθώς και οι εργαστηριακές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκτέλεση της εργασίας.

Στο κεφάλαιο 4 γίνεται αναλυτικότερη περιγραφή του συστήματος και της λειτουργίας του, με αναφορά στα συμπεράσματα που προέκυψαν κατά την παρακολούθησή του καθ' όλη τη διάρκεια που ήταν ενεργό. Επιπλέον, παρουσιάζονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων που διεξάχθηκαν σχετικά με την επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας και του μηχανισμού αναχαίτισής της στα πολυφωσφορικά βακτηρίδια τόσο της ελεύθερης αμμωνίας, όσο και του ελεύθερου νιτρώδες οξέος.

Τέλος, στο κεφάλαιο 5 γίνεται συνολική αναφορά στα σημαντικότερα συμπεράσματα που προέκυψαν από την υλοποίηση της παρούσας έρευνας.

2 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

2.1 Εισαγωγή

Ο φώσφορος και το άζωτο αποτελούν καίρια στοιχεία για την ανάπτυξη των οργανισμών. Είναι βασικά συστατικά του DNA και του RNA των κυττάρων, των αμινοξέων και της χλωροφύλλης, ενώ στα ευκαρυωτικά κύτταρα ο φώσφορος αποτελεί μέρος της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), του μορίου αποθήκευσης ενέργειας που χρησιμοποιείται για την εκτέλεση των λειτουργιών των μικροοργανισμών (Sengupta et al., 2015). Επίσης, το άζωτο είναι το πιο άφθονο συστατικό στον αέρα που αναπνέουμε και, μαζί με το φώσφορο, θεωρούνται φυσικά στοιχεία των υδάτινων οικοσυστημάτων (Prakash et al., 2021).

Η μεγάλη αξία του φωσφόρου έχει να κάνει και με το γεγονός πως είναι μη ανανεώσιμος πόρος, και, ενώ είναι ένα βασικό χημικό στοιχείο για τα έμβια όντα, δεν υπάρχει υποκατάστατό του. Βρίσκεται φυσικά σε γεωλογικές αποθέσεις φωσφορικών πετρωμάτων ή φωσφορίτη, τα οποία κατανέμονται άνισα σε όλο τον κόσμο, και σε επιφανειακά ύδατα και ωκεανούς (Carrillo et al., 2020). Επιπλέον, εκτός του ότι αποτελεί ένα από τα βασικά θρεπτικά συστατικά για όλους τους ζωντανούς οργανισμούς (ζώα, φυτά, βακτήρια κλπ.), είναι και ένας κρίσιμος παράγοντας που επηρεάζει τη γεωργική παραγωγή. Με τη ραγδαία ανάπτυξη του παγκόσμιου πληθυσμού, η ζήτηση για φώσφορο στη βιομηχανία και τη γεωργία όλο και αυξάνεται (Xu et al., 2018b). Αναφέρεται ότι η ετήσια ζήτησή του αυξήθηκε 8.1% το 2019 σε σύγκριση με εκείνη του 2015, σχεδόν διπλάσια από την αύξηση του παγκόσμιου ανθρώπινου πληθυσμού στο ίδιο περίοδο (Gu et al., 2021).

Από την άλλη, όταν βρίσκεται σε περίσσεια, τόσο ο φώσφορος, όσο και το άζωτο, μπορούν να επιδεινώσουν την οικολογική κατάσταση του υδατικού σώματος. Εκτός από τις αλλαγές στο pH και στα επίπεδα οξυγόνου του νερού που μπορεί να είναι επιζήμια για την υδρόβια ζωή, είναι υπεύθυνοι την εμφάνιση του φαινομένου του ευτροφισμού σε ποταμούς και λίμνες (Ramasahayam et al., 2014). Κατά τον ευτροφισμό, γίνεται πολλαπλασιασμός των

φυκιών στο νερό λόγω αύξησης των θρεπτικών ουσιών, καλύπτοντας την επιφάνεια του νερού, με αποτέλεσμα όλο και λιγότερη διαύγεια του νερού. Αυτό έχει σαν συνέπεια να προκαλείται εξάντληση οξυγόνου, εξάλειψη των διαφόρων μορφών ζωής, φωτοσυνθετικών και μη, λόγω εμπόδισης του ηλιακού φωτός και αποξυγόνωσης αντίστοιχα, και, τελικά, καταστρέφεται η οικολογική ισορροπία του υδάτινου σώματος (Li et al., 2021; Li et al., 2019).

Τα οικιακά και τα βιομηχανικά λύματα είναι πλούσια σε αυτές τις θρεπτικές ουσίες. Επομένως, είναι πολύ σημαντική η απομάκρυνσή τους από τα λύματα πριν τη διάθεσή τους στο περιβάλλον. Η βιολογική επεξεργασία τόσο του αζώτου, όσο και του φωσφόρου αποτελούν οικονομικές, αποτελεσματικές και περιβαλλοντικά φιλικές μεθόδους.

Στο παρόν κεφάλαιο, παρουσιάζονται οι διάφοροι τρόποι επεξεργασίας των θρεπτικών αυτών. Επιπλέον, δίνοντας έμφαση στην απομάκρυνση του φωσφόρου, γίνεται ιδιαίτερη αναφορά στους μικροοργανισμούς που σχετίζονται με αυτήν, καθώς και στους παράγοντες που επιδρούν κατά την εφαρμογή της.

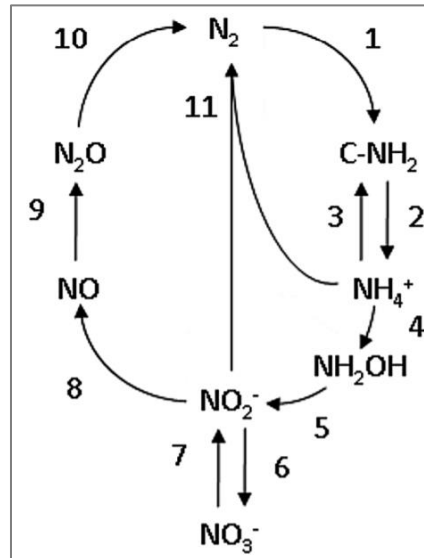
2.2 Άζωτο στα λύματα

2.2.1 Μορφές αζώτου

Το άζωτο στο περιβάλλον εμφανίζεται με διάφορες μορφές και καταστάσεις οξείδωσης, που προκύπτουν από διάφορες βιοχημικές διεργασίες. Στα υδάτινα σώματα, το άζωτο μπορεί να βρεθεί στις εξής μορφές:

- Μοριακό άζωτο (Molecular nitrogen – N_2)
- Οργανικό άζωτο (Organic nitrogen)
- Ελεύθερη αμμωνία (Free ammonia – NH_3)
- Αμμωνιακό ιόν (Ammonium ion - NH_4^+)

- Νιτρώδες ιόν (Nitrite ion - NO_2^-)
- Νιτρικό ιόν (Nitrate ion - NO_3^-)



Σχήμα 2.1: Κύριες διεργασίες μετατροπής του αζώτου κατά τη λειτουργία μιας ΕΕΛ: (1,2) αποδόμηση του οργανικού υλικού, (3) αφομοίωση, (4,5) νιτρωδοποίηση, (6) νιτρικοποίηση, (7) απονιτρικοποίηση, (8-10) απονιτρωδοποίηση και (11) ανοξική οξείδωση αμμωνίας (Gustavsson et al., 2010).

Σε ακατέργαστα οικιακά λύματα, οι κυρίαρχες μορφές είναι οργανικό άζωτο και αμμωνία, η οποία προέρχεται κυρίως από την ουρία. Συνολικά, το οργανικό άζωτο και η αμμωνία αποτελούν το Ολικό Kjeldahl Άζωτο (TKN). Το TKN μπορεί να υποδιαιρεθεί περαιτέρω σε ένα διαλυτό κλάσμα, στο οποίο κυριαρχεί η αμμωνία, και σε ένα σωματιδιακό κλάσμα. Το μεγαλύτερο μέρος του TKN στα οικιακά λύματα έχει φυσική προέλευση. Οι άλλες μορφές αζώτου είναι συνήθως μικρότερης σημασίας στα οικιακά λύματα (Von Sperling et al., 2007). Σε νωπά λύματα η κατανομή μεταξύ αμμωνιακού και οργανικού αζώτου είναι 60% και 40%, αντίστοιχα, όμως οι διάφορες διεργασίες που εκτελούνται κατά το χρονικό διάστημα που παραμένουν τα λύματα στο δίκτυο αποχέτευσης οδηγούν σε αύξηση του αμμωνιακού αζώτου (Ανδρεαδάκης, 2015).

2.2.2 Πηγές αζώτου

Οι διάφορες μορφές του αζώτου μπορούν να καταλήξουν στα λύματα τόσο από φυσικές πηγές, όπως η βροχόπτωση, όσο και από ανθρωπογενείς πηγές (Reeves et al., 1972). Η κύρια ανθρωπογενής πηγή αζώτου είναι οι ανθρώπινες εκκρίσεις, καθώς βρίσκεται στα ούρα υπό τη μορφή αμμωνίας (Von Sperling et al., 2007). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι το 80 – 90 % του ολικού αζώτου εισάγεται στα λύματα ως αμμωνία υπό τη μορφή ουρίας (Reeves et al., 1972). Επιπλέον, υπάρχουν διάφορα βιομηχανικά απόβλητα τα οποία είναι επιβαρυνμένα με άζωτο, όπως απόβλητα των βιομηχανιών παρασκευής λιπασμάτων, απόβλητα των βιομηχανιών επεξεργασίας κρεάτων και γάλακτος, απόβλητα διυλιστηρίων, βιομηχανιών επεξεργασίας συνθετικών υλών και ορισμένων χημικών βιομηχανιών. Επίσης, τα κτηνοτροφικά απόβλητα είναι πλούσια σε άζωτο και επιβαρύνουν τα λύματα. Στα οικιακά λύματα, το φορτίο του ολικού αζώτου ανά κάτοικο ανήκει στο εύρος 10 - 14 g/d (Ανδρεαδάκης, 2015).

2.2.3 Βιολογική απομάκρυνση αζώτου

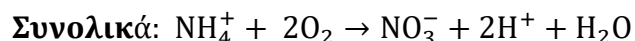
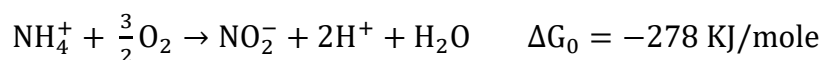
Η βιολογική απομάκρυνση αζώτου είναι μια μέθοδος με ευρεία εφαρμογή στις μονάδες βιολογικής επεξεργασίας λυμάτων, καθώς είναι αποτελεσματική και λιγότερο ακριβή σε σχέση με άλλες φυσικοχημικές μεθόδους, τόσο από άποψη ενεργειακών απαιτήσεων, όσο και από άποψη λειτουργικού κόστους, καθώς μειώνει την κατανάλωση και το κόστος πρόσθετων χημικών, ενώ παράλληλα μειώνει και την παραγωγή στερεών αποβλήτων (Dixit et al., 2019; Zhou et al., 2011; Chung et al., 2006). Στη συνέχεια, αναλύονται οι διάφορες βιολογικές οδοί απομάκρυνσης αζώτου.

2.2.3.1 Νιτροποίηση – Απονιτροποίηση

Η συνηθέστερη μέθοδος βιολογικής απομάκρυνσης αζώτου είναι η εφαρμογή των διεργασιών της νιτροποίησης και της απονιτροποίησης (Chen et al., 2021; Chung et al., 2006; Reeves et al., 1972).

Νιτροποίηση

Πρόκειται για μια αυτοτροφική διαδικασία δύο σταδίων. Στο πρώτο στάδιο η αμμωνία οξειδώνεται σε νιτρώδη, τα οποία, στο δεύτερο στάδιο, οξειδώνονται περαιτέρω σε νιτρικά. (Chung et al., 2006; Ahn et al., 2006a). Τα δύο στάδια είναι γνωστά ως «νιτρωδοποίηση» και «νιτρικοποίηση», αντίστοιχα. Οι εξισώσεις που τα περιγράφουν παραθέτονται πιο κάτω (Ανδρεαδάκης, 2015):



Από τις πιο πάνω εξισώσεις, είναι εμφανής η αναγκαιότητα ύπαρξης οξυγόνου, το οποίο λειτουργεί ως αποδέκτης ηλεκτρονίων και για τα δύο στάδια. Σε ένα βιολογικό αντιδραστήρα η συνολική διαδικασία της νιτροποίησης λαμβάνει χώρα, προφανώς, σε αερόβια δεξαμενή. Τιμές διαλυμένου οξυγόνου μικρότερες των 1 - 1.5 mgDO/L μπορούν να οδηγήσουν σε περιορισμένη νιτροποίηση (Ανδρεαδάκης, 2015).

Συγκεκριμένα, προκύπτει ότι το απαιτούμενο οξυγόνο για την πλήρη οξείδωση της αμμωνίας είναι 4.57 g O₂/g αμμωνιακού αζώτου που οξειδώνεται, από τα οποία τα 3.43 g O₂/g χρησιμοποιούνται για την παραγωγή νιτρωδών και 1.14 g O₂/g NO₂ για την παραγωγή νιτρικών.

Κατά την νιτρωδοποίηση, η οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρώδη γίνεται από τα βακτήρια οξείδωσης αμμωνίας (AOBs), ενώ κατά την νιτρικοποίηση, η περαιτέρω οξείδωση των

νιτρωδών σε νιτρικά υλοποιείται από τα βακτήρια οξειδωσης νιτρωδών (NOBs). Και οι δύο ομάδες βακτηρίων αποτελούν αυτότροφους χημικολιθοτροφικούς μικροοργανισμούς, οι οποίοι χρησιμοποιούν το οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων και διάφορες ανόργανες ενώσεις (CO_2 , HCO_3) ως πηγή άνθρακα για σύνθεση νέου κυτταρικού υλικού μέσω του κύκλου του Calvin, ενώ λαμβάνουν ενέργεια μέσω χημικών αντιδράσεων, δηλαδή την οξείδωση του αμμωνιακού και νιτρώδους αζώτου σύμφωνα με τις αντιδράσεις που παρουσιάστηκαν πιο πάνω (Liu et al., 2019; Qian et al., 2017; Ahn et al., 2006a; Philips et al., 2002). Ο ρυθμός ανάπτυξής τους είναι πολύ αργός σε σύγκριση με τους ετεροτροφικούς οργανισμούς. Για κάθε άτομο άνθρακα τα αυτοτροφικά βακτήρια καταναλώνουν το 80% της ενέργειας που παράγεται από την οξείδωση του υποστρώματος, με αποτέλεσμα μια πολύ χαμηλή απόδοση ανάπτυξης (Zhou et al., 2011; Philips et al., 2002).

Η οξείδωση της NH_4^+ σε NO_2^- γίνεται με την υδροξυλαμίνη ως ενδιάμεσο, μέσω της δράσης δύο ενζύμων, του ενζύμου μονο-οξυγενάσης της αμμωνίας (AMO) και του ενζύμου οξειδορεδοκτάσης της υδροξυλαμίνης (HAO). Η οξείδωση της αμμωνίας είναι ενδοθερμική, ενώ αυτή της υδροξυλαμίνης είναι η αντίδραση που δίνει ενέργεια. Παρόλο που τα βακτήρια χρησιμοποιούν το NH_4^+ ως πηγή ενέργειας, δεν το οξειδώνουν όλο κατά τη νιτροποίηση, αλλά ένα μέρος του χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη των κυττάρων, όπου το CO_2 λειτουργεί ως πηγή άνθρακα (Dixit et al., 2019).

Τα βακτήρια AOBs και NOBs συνυπάρχουν στα συστήματα βιολογικής επεξεργασίας λυμάτων με συντροφική αλληλεπίδραση. Τα AOBs οξειδώνουν την αμμωνία σε νιτρώδη, τα οποία χρησιμεύουν ως πηγή ενέργειας στα NOBs. Επιπλέον, τα NOBs μέσω της οξείδωσης των νιτρωδών, εμποδίζουν τη συσσώρευση νιτρώδους αζώτου, το οποίο θα μπορούσε να είναι τοξικό ή ανασταλτικό, τόσο για τα AOBs, όσο και για τα NOBs (Vadivelu et al., 2007; Vadivelu et al., 2006a).

Μελέτες των τελευταίων δύο δεκαετιών έχουν καταλήξει, έπειτα από συγκριτικές αναλύσεις 16S rRNA, ότι τα AOBs και τα NOBs είναι Proteobacteria που, όμως, μπορούν να αντιμετωπιστούν ως ξεχωριστές γενεαλογίες (Dixit et al., 2019). Η οξείδωση της αμμωνίας

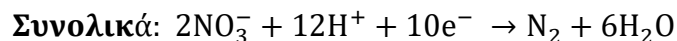
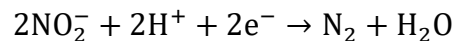
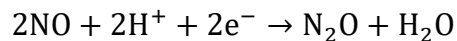
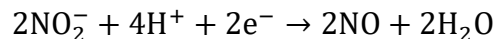
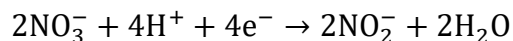
σε νιτρώδη υλοποιείται, κυρίως, από τα βακτήρια του γένους *Nitrosomonas* και σε μικρότερο βαθμό από το γένος *Nitrosospira*, τα οποία είναι Gram αρνητικά *Betaproteobacteria*. Η οξείδωση των νιτρωδών γίνεται από τα βακτήρια του γένους *Nitrobacter*, το οποίο ανήκει στα *Alphaproteobacteria*, του γένους *Nitrococcus* και του γένους *Nitrospira* (Rahimi et al., 2020; Ahn et al., 2006a; Daims et al., 2006; Reeves et al., 1972).

Η νιτροποίηση είναι μια διεργασία αργή, κατά την οποία η οξείδωση της αμμωνίας θεωρείται συχνά το στάδιο περιορισμού του ρυθμού, καθώς η ταχύτητα οξείδωσης των νιτρωδών είναι μεγαλύτερη (Zhou et al., 2011; Gil et al., 2001). Ωστόσο, πολλές περιβαλλοντικές συνθήκες μπορούν να προκαλέσουν την αύξηση της ταχύτητας οξείδωσης της αμμωνίας σε σχέση με την οξείδωση των νιτρωδών. Τα NOBs είναι πιο ευαίσθητα στο ηλιακό φως από τα AOBs (Philips et al., 2002). Επιπλέον, σε συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας τα AOBs ανταγωνίζονται τα NOBs λόγω του μεγαλύτερου ρυθμού ανάπτυξης τους σε θερμοκρασίες υψηλότερες από 25°C (Hellings et al., 1998), ενώ έχει αποδειχθεί πως τα NOBs είναι πιο ευαίσθητα ως προς το οξυγόνο από τα AOBs, και, άρα, σε συνθήκες χαμηλού διαλυμένου οξυγόνου (DO) ευνοείται η συσσώρευση νιτρωδών (Ciudad et al., 2006; Sliekers et al., 2005). Όσον αφορά το pH, μπορεί να επιδράσει άμεσα στην νιτροποίηση, αλλάζοντας τον μηχανισμό αντίδρασης των ενζύμων, ή έμμεσα, επηρεάζοντας την κυρίαρχη ανασταλτική μορφή της αμμωνίας. Σε βασική κατάσταση αυξάνεται η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας (FA), ενώ σε όξινη κατάσταση αυξάνεται η συγκέντρωση του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA) (Park et al., 2015). Γενικά, έχει αναφερθεί ευρέως στη βιβλιογραφία πως τα NOBs είναι πολύ πιο ευαίσθητα βακτήρια από τα AOBs, καταλήγοντας σε ατελή νιτροποίηση, η οποία οδηγεί σε συσσώρευση νιτρωδών στο αερόβιο τμήμα του βιολογικού αντιδραστήρα (Dixit et al., 2019; Qian et al., 2017; Kim et al., 2006; Chung et al., 2006). Η συσσώρευση αυτή είναι ανεπιθύμητη στη βιολογική επεξεργασία λυμάτων, γιατί μπορεί να είναι τοξική για ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών. Ανάλογα με τη συγκέντρωση των νιτρωδών, το pH και τη θερμοκρασία του συστήματος, αυτή η συσσώρευση μπορεί να επιβραδύνει ή ακόμη και να σταματήσει εντελώς τις

μικροβιακές δραστηριότητες και να αναδιαμορφώσει τη δομή της μικροβιακής κοινότητας (Zhou et al., 2011).

Απονιτροποίηση

Η διεργασία της απονιτροποίησης αφορά την αναγωγή νιτρικών σε μοριακό άζωτο με νιτρώδη, μονοξείδιο του αζώτου (NO) και υποξείδιο του αζώτου (N₂O) ως ενδιάμεσα (Liu et al., 2019). Πηγή άνθρακα και ενέργειας αποτελεί το οργανικό φορτίο των λυμάτων, ενώ τα νιτρικά αποτελούν τον αποδέκτη ηλεκτρονίων (Liu et al., 2019; Qian et al., 2017; Stein et al., 2016). Πρόκειται για διεργασία που εκτελείται από ετεροτροφικούς χημικοοργανοτροφικούς μικροοργανισμούς και λαμβάνει χώρα σε ανοξικές συνθήκες, δηλαδή σε συνθήκες πλήρους απουσίας οξυγόνου (DO<0.5 mg/L) και παρουσίας νιτρικών (Ανδρεαδάκης, 2015; Ahn et al., 2006a). Οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν διάφορες μορφές οξειδωμένου αζώτου ως αποδέκτη ηλεκτρονίων και, συγκεκριμένα, τα νιτρικά, τα νιτρώδη, το μονοξείδιο του αζώτου και το υποξείδιο του αζώτου (Zhou et al., 2011; Reeves et al., 1972). Η αναγωγή κάθε οξειδίου του αζώτου καταλύεται από ένα συγκεκριμένο ένζυμο, που γενικά αναφέρεται ως αναγωγάση του εκάστοτε οξειδίου του αζώτου των απονιτροποιητικών βακτηρίων (Philips et al., 2002). Παρακάτω παρουσιάζονται οι εξισώσεις που περιγράφουν την απονιτροποίηση:



Ενώ κατά τη νιτροποίηση έχουμε μετατροπή της αμμωνίας σε νιτρικά, δηλαδή απομακρύνεται μεν η αμμωνία, αλλά το άζωτο ουσιαστικά δεν απομακρύνεται, κατά την

απονιτροποίηση, αφού τα νιτρικά ανάγονται σε μοριακό άζωτο, αυτό διαφεύγει στην ατμόσφαιρα, επιτυγχάνοντας όντως την απομάκρυνση του αζώτου. Για να διασφαλιστεί η πλήρης απονιτροποίηση, πρέπει να ολοκληρωθεί η νιτροποίηση (Von Sperling et al., 2007; Reeves et al., 1972).

Για την εκτέλεση της απονιτροποίησης απαιτούνται, θεωρητικά, 2.68 g COD ανά g NO₃-N (νιτρικό άζωτο). Στην πράξη, αυτός ο λόγος θα πρέπει να λαμβάνεται μεγαλύτερος του 4, για να διασφαλιστεί μια αρκετά γρήγορη και πλήρης μετατροπή σε N₂, καθώς ένα μέρος του COD μετατρέπεται σε κυτταρόπλασμα μέσω σύνθεσης (Ανδρεαδάκης, 2015; Philips et al., 2002).

Όσον αφορά την αλκαλικότητα, σημειώνεται ότι κατά τη διάρκεια της νιτροποίησης, παράγονται ιόντα H⁺ και καταναλώνεται αλκαλικότητα, η οποία οδηγεί σε μείωση του pH στη δεξαμενή αερισμού. Αντιστρόφως, κατά την απονιτροποίηση καταναλώνονται ιόντα H⁺ και παράγεται αλκαλικότητα, αντισταθμίζοντας εν μέρει τους μηχανισμούς μείωσης του pH που συμβαίνουν στη νιτροποίηση (Von Sperling et al., 2007). Γενικά, για κάθε 1 mol αμμωνίας που μετατρέπεται σε νιτρικά περίπου 7.1 moles αλκαλικότητας καταναλώνονται και για κάθε 1 mol νιτρικών που αφαιρείται, 3.6 moles αλκαλικότητας ανακτώνται (Scott et al., 2012).

Μερικά από τα πιο κοινά απονιτροποιητικά βακτήρια είναι τα *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes* και *Paracoccus*, τα οποία είναι Gram αρνητικά Proteobacteria, τα *Micrococcus*, τα οποία είναι Gram θετικά Actinobacteria και τα *Bacillus*, τα οποία είναι Gram θετικά Firmicutes (Huang et al., 2020; Ahn et al., 2006a; Reeves et al., 1972).

Τα κύρια προβλήματα της βιολογικής απομάκρυνσης του αζώτου μέσω νιτροποίησης – απονιτροποίησης είναι το γεγονός πως η νιτροποίηση είναι μια μέθοδος αργή, η οποία απαιτεί σχετικά μεγάλη ποσότητα οξυγόνου και η αντίδραση της απονιτροποίησης απαιτεί πολλή πηγή άνθρακα, η οποία συχνά δεν επαρκεί στα λύματα (Chung et al., 2006). Ο μεγάλος χρόνος ανάπτυξης των αυτοτροφικών νιτροποιητικών βακτηρίων, όπως επίσης και η ανάγκη για διαχωρισμό των αερόβιων και ανοξικών τμημάτων στο βιοαντιδραστήρα,

οδηγούν σε απαίτηση μεγάλου όγκου, χρόνου και λειτουργικού κόστους για εφαρμογή της μεθόδου (Chen et al., 2021). Επιπλέον, υπάρχει κίνδυνος διαφυγής υποξειδίου του αζώτου, το οποίο είναι αέριο του θερμοκηπίου, πιο ισχυρό από το CO₂ κατά 296 φορές, ενώ μπορεί να μείνει σε σταθερή κατάσταση στην ατμόσφαιρα για 114 έτη (IPCC, 2007)

2.2.3.2 Νιτρωδοποίηση – Απονιτρωδοποίηση

Η νιτρωδοποίηση αποτελεί, όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, το πρώτο στάδιο της νιτροποίησης, όπου η αμμωνία οξειδώνεται σε νιτρώδη, με το οξυγόνο να λειτουργεί ως αποδέκτης ηλεκτρονίων, χωρίς όμως να εκτελείται το δεύτερο στάδιο της νιτροποίησης, δηλαδή δεν επιτελείται περαιτέρω οξείδωση των νιτρωδών σε νιτρικά. Για να γίνει αυτό, είναι απαραίτητη η αναστολή της λειτουργίας των NOBs (Zeng et al., 2010).

Παράγοντες που αναστέλλουν ή περιορίζουν την ανάπτυξη NOBs είναι, μεταξύ άλλων, η υψηλή θερμοκρασία, επειδή τα AOBs αναπτύσσονται ταχύτερα από τους NOBs σε θερμοκρασίες άνω των 20°C, ένα ελεγχόμενο HRT, πολλή αλατότητα και χαμηλές συγκεντρώσεις DO (Wang et al., 2014; Gao et al., 2009; Park et al., 2009; Guo et al., 2009; Yang et al., 2007). Επίσης, οι ανασταλτικές επιδράσεις της ελεύθερης αμμωνίας (FA) και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA) στους μεταβολισμούς των AOBs και NOBs έχει προταθεί ως ένας σημαντικός παράγοντας που οδηγεί στην εξάλειψη των NOBs (Vadivelu et al., 2006a; Philips et al., 2002). Η ανασταλτική δράση της FA εμφανίζεται για pH μεγαλύτερο του 8, ενώ το FNA έχει περισσότερη ανασταλτική δράση σε χαμηλότερο pH (<7.5) (Dixit et al., 2019). Σε μια ανασκόπηση που έκαναν οι Dixit et al. (2019) κατέληξαν ότι διάφορες φυσικοχημικές παράμετροι που ευνοούν τη συσσώρευση νιτρωδών είναι pH στο εύρος 7.5 – 8.5, θερμοκρασία που κυμαίνεται μεταξύ 20°C και 25°C και συγκέντρωση DO μεταξύ 0.5 – 1.5 mg/L. Οι φυσικές θερμοκρασίες των οικιακών λυμάτων ποικίλλουν μεταξύ 10 – 25°C αναλόγως της εποχής, όμως σε αυτό το εύρος θερμοκρασίας, η υψηλή συσσώρευση νιτρωδών είναι δύσκολο να διατηρηθεί (Hellings et al., 1998), ενώ οι συγκεντρώσεις των FA και FNA στα οικιακά λύματα δεν μπορούν να φθάσουν σε επίπεδα που είναι ανασταλτικά

για τα NOBs. Άρα, μόνο η ρύθμιση του HRT και ο έλεγχος της συγκέντρωσης του DO μπορούν να αποτελέσουν παράγοντες για την αναστολή των NOBs. Σημειώνεται ότι σε χαμηλές συγκεντρώσεις DO τα NOBs είναι πιο ευαίσθητα από τα AOBs, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει την ζητούμενη αναστολή των NOBs, αλλά και εξοικονόμηση αερισμού (Zeng et al., 2010).

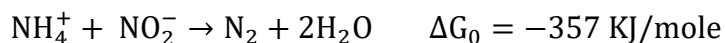
Η απονιτροδοποίηση λαμβάνει χώρα μετά την νιτροδοποίηση, όπου το νιτρώδες άζωτο ($\text{NO}_2\text{-N}$) ανάγεται σε μοριακό άζωτο. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι η ύπαρξη ανοξικών συνθηκών. Πηγή άνθρακα και ενέργειας αποτελεί το οργανικό φορτίο των λυμάτων, ενώ, όπως και στην απονιτροποίηση, γίνεται ανάκτηση μέρους της αλκαλικότητας που καταναλώθηκε κατά την νιτροδοποίηση (Gustavsson et al., 2010).

Η βιολογική απομάκρυνση αζώτου μέσω αυτής της οδού ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$) είναι ευνοϊκή για εγκαταστάσεις επεξεργασίας λυμάτων χωρίς επαρκείς πηγές άνθρακα (Wang et al., 2017). Η εφαρμογή αυτής της μεθόδου οδηγεί, θεωρητικά, σε εξοικονόμηση έως και 25% της ζήτησης οξυγόνου στο αερόβιο στάδιο, εξοικονομώντας ταυτόχρονα 60% ενεργειακό κόστος, και έως και 40% της πηγής άνθρακα, σε σύγκριση με την πλήρη νιτροποίηση-απονιτροποίηση, λόγω των χαμηλότερων απαιτήσεων σε άνθρακα ως δότη ηλεκτρονίων στο ανοξικό στάδιο σε σχέση με την απονιτροποίηση και των χαμηλότερων απαιτήσεων οξυγόνου σε σχέση με τη νιτροποίηση, αφού εκτελείται μόνο το πρώτο στάδιο της νιτροποίησης (Dixit et al., 2019; Vadivelu et al., 2007; Chung et al., 2006). Επιπλέον, η παραγωγή λάσπης μειώνεται κατά 30% και 55% στα στάδια νιτροποίησης και απονιτροποίησης, αντίστοιχα, ενώ οι εκπομπές CO_2 ελαττώνονται κατά 20%, καθιστώντας τη μέθοδο αυτή πιο οικονομικά και περιβαλλοντικά συμφέρουσα (Dixit et al., 2019; Gustavsson et al., 2010; Zeng et al., 2010). Για την επεξεργασία οικιακών λυμάτων, όπου η οργανική ύλη είναι συνήθως περιορισμένη, η απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτροδοποίησης – απονιτροδοποίησης αποτελεί σημαντική λύση (Zeng et al., 2010). Αποτελεί μια φθηνή και τεχνολογικά εφικτή διαδικασία για την επεξεργασία λυμάτων που περιέχουν υψηλό αμμωνιακό άζωτο ή χαμηλή αναλογία C/N (Dixit et al., 2019).

2.2.3.3 Ανοξική οξείδωση της αμμωνίας

Τα τελευταία χρόνια η απομάκρυνση του αζώτου μέσω της ανοξικής οξείδωσης της αμμωνίας έχει κερδίσει έδαφος, ενώ έχει γίνει σαφές πως τα βακτήρια που την υλοποιούν, τα Anammox, αποτελούν σημαντικούς παράγοντες στον παγκόσμιο κύκλο αζώτου (Liu et al., 2019; Jetten et al., 2009; Vadivelu et al., 2007). Κατά τη διαδικασία αυτή, εκτελείται ένα μόνο στάδιο για την αφαίρεση του αζώτου, έναντι των δύο σταδίων της νιτροποίησης – απονιτροποίησης.

Είναι απαραίτητη η εκτέλεση μερικής νιτροποίησης για την οξείδωση ενός μέρους της αμμωνίας σε νιτρώδη μέσω των AOBs, με ταυτόχρονη αναστολή των NOBs για να μην λάβει χώρα το δεύτερο στάδιο της νιτροποίησης (Daims et al., 2006). Τα νιτρώδη θα αποτελέσουν τον αποδέκτη ηλεκτρονίων για την οξείδωση της εναπομείναντας αμμωνίας από τα βακτήρια Anammox. Τελικά, παράγεται αέριο άζωτο, το οποίο απομακρύνεται στην ατμόσφαιρα (Liu et al., 2019; Stein et al., 2016; Vadivelu et al., 2007). Αν και το κύριο προϊόν της διαδικασίας είναι το αέριο άζωτο, περίπου 11% μετατρέπεται σε νιτρικά, πράγμα που σημαίνει ότι, θεωρητικά, επιτυγχάνεται 89% απομάκρυνση αζώτου. (Gustavsson et al., 2010; Ahn et al., 2006a). Η εξίσωση που περιγράφει την συγκεκριμένη διεργασία είναι η εξής:



Οι μικροοργανισμοί Anammox είναι αναερόβιοι, χημικολιθοαυτότροφοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι συμβιώνουν με τα AOBs σε ενδιαιτήματα πλούσια σε αμμωνία (π.χ. στραγγίδια αναερόβιας χώνευσης) (Zhang et al., 2020a; Daims et al., 2006; Ahn et al., 2006a). Είναι αργά αναπτυσσόμενοι, με τα κύτταρά τους να διπλασιάζονται μόνο μία φορά ανά 11 - 20 ημέρες (Zhang et al., 2020a; Gustavsson et al., 2010; Jetten et al., 2009), ενώ για πηγή άνθρακα χρησιμοποιούν το CO₂ (Ahn et al., 2006a). Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η δραστηριότητα των Anammox αναστέλλεται προσωρινά σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις DO (DO < 0.032 mg/L), και αργότερα ανακάμπτει υπό ανοξικές συνθήκες (Strous et al., 1999b), ενώ μια άλλη μελέτη απέδειξε ότι τα βακτήρια Anammox μπορούν να είναι

ζωντανά σε αερόβιες δεξαμενές, ακόμη και όταν το DO υπερβαίνει τα 2 mg/L (Wang et al., 2015). Επιπλέον, οι Strous et al. (2006) αναφέρουν ότι τα βακτήρια Anammox είναι ικανά να χρησιμοποιούν δισθενές σίδηρο (Fe^{2+}) και μια ποικιλία οργανικών ενώσεων ως δότες ηλεκτρονίων, ενώ χρησιμοποιούν επίσης τρισθενές σίδηρο (Fe^{3+}), οξείδια μαγγανίου και νιτρικά ως δέκτες ηλεκτρονίων στο μεταβολισμό τους. Επίσης, προτείνεται η ύπαρξη μιας τροποποιημένης οδού των Anammox, στην οποία χρησιμοποιείται υδροξυλαμίνη (NH_2OH) αντί για NO για την οξείδωση του NH_4^+ , αλλά απαιτείται επιπλέον έρευνα για την επικύρωση αυτής της οδού (Stein et al., 2016).

Οι μικροοργανισμοί Anammox φυλογενετικά σχετίζονται με τα γένη Planctomycetes, καθώς εμφανίζουν μια σύνθετη αρχιτεκτονική κυττάρων με ένα κεντρικό διαμέρισμα κυττάρων, το «αναμοξώσωμα», στο οποίο γίνεται η παραγωγή του αέριου αζώτου (Ma et al., 2016; Jetten et al., 2009; Ahn et al., 2006a). Η πρώτη περιγραφή ενός Anammox βακτηριδίου χρονολογείται το 1999 όταν οι Strous et al. (1999a) μελέτησαν ένα βακτηρίδιο σε μια εργαστηριακή καλλιέργεια, το οποίο μετέτρεψε τη αμμωνία και τα νιτρώδη σε αέριο άζωτο σε συνθήκες απουσίας οξυγόνου. Το πρώτο Anammox βακτήριο ονομάστηκε «Brocadia anammoxidans» (Jetten et al., 2009). Έχουν αναγνωριστεί, επίσης, ακόμη δύο Anammox βακτήρια σε βιοαντιδραστήρες, τα Candidatus Kuenenia και Candidatus Jettenia (Ma et al., 2016; Wang et al., 2015).

Η εφαρμογή της ανοξικής οξείδωσης της αμμωνίας αποτελεί μια ελκυστική εναλλακτική λύση στα τρέχοντα συστήματα επεξεργασίας λυμάτων, αποτελώντας μια πιο οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον διαδικασία αφαίρεσης αζώτου από τα λύματα, καθώς αφαιρεί ταυτόχρονα την αμμωνία και τα νιτρώδη, χωρίς την παραγωγή N_2O (Zhang et al., 2020a; Stein et al., 2016; Ahn et al., 2006a). Επί του παρόντος, εφαρμόζεται σε τουλάχιστον πέντε συστήματα αντιδραστήρων πλήρους κλίμακας (Jetten et al., 2009).

Πρόκειται, ουσιαστικά, για μια μέθοδο με σημαντικά πλεονεκτήματα, έναντι της κλασσικής οδού νιτροποίησης – απονιτροποίησης, καθώς μειώνει τη ζήτηση οξυγόνου και άνθρακα κατά 57% και 86%, αντίστοιχα (Gustavsson et al., 2010; Daims et al., 2006; Ahn et al.,

2006a). Επιπλέον, ο αναγκαίος όγκος του αντιδραστήρα είναι μικρότερος λόγω χαμηλότερων απαιτήσεων HRT, ενώ η λάσπη που παράγεται είναι λιγότερη, οδηγώντας σε μειωμένους όγκους στα έργα επεξεργασία της. Αυτά τα πλεονεκτήματα είναι ακόμη πιο έντονα όταν ένα απόβλητο νερό περιέχει ψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας ή χαμηλό οργανικό άνθρακα (Ma et al., 2016; Zhou et al., 2011).

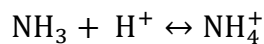
Η εξοικονόμηση της οργανικής ύλης μέσω της εφαρμογής των Anammox οδηγεί σε ένα ακόμα έμμεσο πλεονέκτημα. Κατά την απομάκρυνση αζώτου μέσω της συμβατικής μεθόδου της νιτροποίησης – απονιτροποίησης, η περισσότερη οργανική ύλη καταναλώνεται ως πηγή άνθρακα κατά την απονιτροποίηση. Η οργανική ύλη είναι σημαντικός ενεργειακός πόρος, επειδή μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κατάντη διεργασίες για την παραγωγή μεθανίου από αναερόβια μεθανογενή βακτηρία για την παραγωγή ενέργειας, άρα, όταν καταναλώνεται το μεγαλύτερο μέρος της στην απονιτροποίηση, απομένουν λιγότερα αποθέματα για παραγωγή ενέργειας. Λαμβάνοντας υπόψη τη μειωμένη απαίτηση σε οργανική ύλη κατά την ανοξική οξείδωση της αμμωνίας, μειώνεται κατά πολύ η ποσότητα οργανικής ύλης που χρησιμοποιείται, επιτυγχάνεται μεγαλύτερη παραγωγή μεθανίου και ενισχύεται η ανάκτηση ενέργειας από τα λύματα (Ma et al., 2016).

Ωστόσο, ο πολύ αργός ρυθμός ανάπτυξης των συγκεκριμένων μικροοργανισμών και ο μεγάλος απαιτούμενος χρόνος για την αρχική συσσώρευσή τους κατά τη φάση εκκίνησης των αντιδραστήρων ή μετά από βλάβες λόγω διαταραχών αποτελούν προβλήματα για την εύκολη εφαρμογή της μεθόδου (Daims et al., 2006). Για το λόγο αυτό, πολλές φορές προτιμάται ο εγκλιματισμός της ιλύος, καθώς η φάση της εκκίνησης μπορεί να κρατήσει αρκετούς μήνες (Gustavsson et al., 2010). Τέλος, απαιτείται σημαντικός έλεγχος για να επικρατήσουν οι αναγκαίες συνθήκες για την επίτευξη συσσώρευσης νιτρωδών, τα οποία παράγονται είτε μέσω μερικής νιτροποίησης, είτε μέσω μερικής απονιτροποίησης (Ma et al., 2016; Chung et al., 2006). Η επίτευξη συσσώρευσης βασίζεται στην αναστολή της δραστηριότητας NOBs και δείχνει ότι η ανάπτυξη NOBs είναι χαμηλότερη από την ανάπτυξη AOBs. Από την άλλη, πολύ υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών μπορεί να γίνουν τοξικές για τα

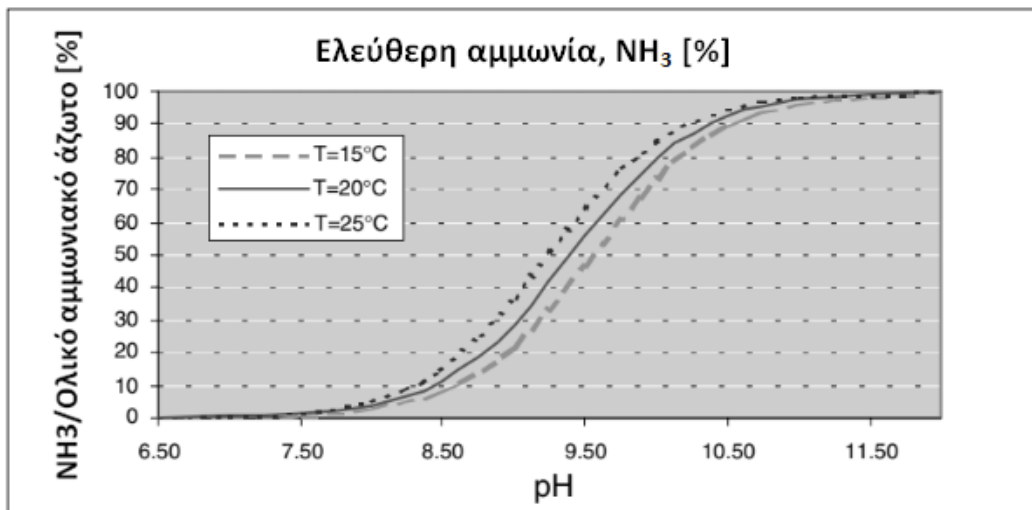
βακτήρια. Αυτό εξαρτάται και από την περίοδο εγκλιματισμού των βακτηρίων (Gustavsson et al., 2010).

2.2.4 Ελεύθερη αμμωνία (FA)

Με τον όρο ελεύθερη αμμωνία (Free Ammonia, FA) εννοούμε το αμμωνιακό άζωτο που περιέχεται στα λύματα με τη μορφή του χημικού τύπου της αμμωνίας (NH_3). Η αμμωνία υπάρχει στα διαλύματα με τη μορφή του αμμωνιακού ιόντος (NH_4^+) και με τη μορφή της ελεύθερης αμμωνίας (Von Sperling et al., 2007). Οι δύο μορφές βρίσκονται σε ισορροπία σύμφωνα με την ακόλουθη δυναμική ισορροπία:



Η ισορροπία των δύο μορφών επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και το pH όπως παρουσιάζεται στο ακόλουθο σχήμα.



Σχήμα 2.2: Ελεύθερη αμμωνίας συναρτήσει θερμοκρασίας και pH (Von Sperling et al., 2007)

Με την αύξηση του pH, δηλαδή σε απουσία H^+ , οι συγκεντρώσεις FA είναι μεγαλύτερες. Από το πιο πάνω σχήμα, προκύπτει πως στο συνηθισμένο εύρος του pH, κοντά στην

ουδέτερο pH, το αμμωνιακό άζωτο είναι πρακτικά στην ιονισμένη μορφή (NH₄⁺). Όταν το pH είναι μικρότερο του 8, η κυριαρχεί η μορφή των αμμωνιακών ιόντων, καθώς η συγκέντρωση κατιόντων υδρογόνου (H⁺) αυξάνεται και, άρα, για να υπάρξει ισορροπία, περισσότερα μόρια αμμωνίας μετατρέπονται σε ιόντα αμμωνίου. Για pH μεγαλύτερα του 11, το αμμωνιακό άζωτο είναι κυρίως με τη μορφή ελεύθερης αμμωνίας, ενώ για pH κοντά στο 9 τα ποσοστά της ελεύθερης αμμωνίας και του αμμωνιακού ιόντος είναι περίπου ίσα (Von Sperling et al., 2007; Reeves et al., 1972).

Επιπλέον, η σχέση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας είναι αναλογική, δηλαδή όσο αυξάνεται η θερμοκρασία, αυξάνεται και η ελεύθερη αμμωνία. Για θερμοκρασία ίση με 25°C, η αναλογία της ελεύθερης αμμωνίας σε σχέση με το ολικό αμμωνιακό άζωτο είναι περίπου διπλάσια από την αντίστοιχη αναλογία για θερμοκρασία ίση με 15°C (Von Sperling et al., 2007).

Η ακόλουθη εξίσωση των Anthonisen et al. (1976) χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ελεύθερης αμμωνίας συναρτήσει της θερμοκρασίας και του pH:

$$FA \left(\frac{\text{mgNH}_3 - \text{N}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{NH}_4 - \text{N}_{\text{ολικό}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times 10^{\text{pH}}}{K_b/K_w + 10^{\text{pH}}}$$

Όπου $K_b/K_w = e^{\frac{6344}{273+T(^{\circ}\text{C})}}$

K_b: σταθερά ιονισμού της εξίσωσης ισορροπίας αμμωνίας

K_w: σταθερά ιονισμού του νερού

Στις ΕΕΛ η αμμωνία στα λύματα προέρχεται από την εισροή και από τα στραγγίδια της γραμμής ιλύος που επανακυκλοφορούν. Η ύπαρξη της αμμωνίας συνεπάγεται την παρουσία ελεύθερης αμμωνίας. Οι Liu et al. (2019) αναφέρουν ότι για μια τυπική συγκέντρωση αμμωνίας 30 mg NH₄-N/L και pH 7-8 στους 20°C στη γραμμή επεξεργασίας λυμάτων, η συγκέντρωση της FA θα ανήκε στο εύρος 0.14-1.38 mg NH₃-N/L (McCarty et al., 2018; Cervantes et al., 2009). Από την άλλη, αν στη γραμμή επεξεργασίας λάσπης η

συγκέντρωση της αμμωνίας και το pH αντιστοιχούν σε 1.0 – 2.0 g NH₄-N/L και 7.5 – 8.8, η συγκέντρωση της FA θα κυμαίνεται από 30 ως 560 mg NH₃-N/L στους 33°C (Aponte-Morales et al., 2018; Wang et al., 2017; Cervantes et al., 2009). Επομένως, η συσσώρευση της FA παρατηρείται συνήθως στη γραμμή επεξεργασίας υλός.

Τοξικότητα της ελεύθερης αμμωνίας (FA)

Η ελεύθερη αμμωνία μπορεί να επιδράσει αρνητικά σε διάφορους μικροοργανισμούς σε μια Εγκατάσταση Επεξεργασίας Λυμάτων (ΕΕΛ) (Liu et al., 2019). Αρχικά, έχει αναφερθεί ευρέως στην βιβλιογραφία η ανασταλτική της επίδραση στα βακτήρια NOBs και AOBs, με τα πρώτα να παρουσιάζονται πιο ευαίσθητα στη δράση της (Wang et al., 2017; Vadivelu et al., 2006a). Για παράδειγμα, οι Anthonisen et al. (1976) αναφέρουν ότι η αναστολή του *Nitrosomonas*, ενός τυπικού AOB βακτηρίου, στη νιτροποίηση ξεκίνησε όταν η συγκέντρωση της FA ήταν 10 - 150 mg/L, ενώ η αντίστοιχη τιμή για το *Nitrobacter*, ένα τυπικό NOB βακτήριο, ήταν 0.1 – 1.0 mg/L. Βασιζόμενοι σε αυτό, οι Chung et al. (2006) ανακάλυψαν πως το βέλτιστο εύρος συγκέντρωσης FA για μια εγκλιματισμένη λάσπη είναι 5 - 10 mg / L, ώστε να σταθεροποιείται η συσσώρευση νιτρωδών και να επιτυγχάνεται η μέγιστη απομάκρυνση αμμωνίας. Την επίδραση του FA στο *Nitrobacter* εξέτασαν και οι Vadivelu et al. (2007) με τη μέθοδο OUR. Η επίδρασή στον μεταβολισμό του *Nitrobacter* εκτιμήθηκε σε μια καλλιέργεια *Nitrobacter*, η οποία δεν είχε εγκλιματιστεί στο FA. Η μελέτη έδειξε πως ο ρυθμός αναπνοής του *Nitrobacter* σε απουσία και παρουσία ανόργανου άνθρακα μειώθηκε κατά 12% και 25%, αντίστοιχα, όταν η συγκέντρωση FA αυξήθηκε από 0 σε 9 mg NH₃-N /L, ενώ διαπιστώθηκε ότι η αναπνοή του παρεμποδίστηκε από την FA ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (λιγότερο από 1 mgNH₃-N/L). Επίσης, οι Vadivelu et al. (2006a) παρατήρησαν ότι σε συγκέντρωση FA ίση με 7.5 mg NH₃-N/L η βιοσύνθεση των NOBs σταμάτησε πλήρως, ενώ οι Kim et al. (2006) αναφέρουν μείωση περισσότερο από 50% στη δραστηριότητα των NOBs για FA ίση με 0.7 mg NH₃-N /L.

Όσον αφορά την απονιτροποίηση, οι Yang et al. (2018) παρατήρησαν μείωση στη διεργασία της απονιτροποίησης κατά 36% σε μια ενεργή ιλύ όγκου 2L, η οποία εκτέθηκε σε συγκέντρωση FA ίση με 16 mg NH₃/L για 1 ημέρα. Πιο συγκεκριμένα, μειώθηκαν οι δραστηριότητες των AOBs και NOBs κατά 21% και 47%, αντίστοιχα. Γενικά, η FA μπορεί να έχει ανασταλτική επίδραση στα απονιτροποιητικά βακτήρια, συγκρίσιμη με αυτή στα AOBs και NOBs. Επιπλέον, οι Qian et al. (2017) εξέτασαν την επίδραση της FA στα NOBs και AOBs σε αναερόβιες συνθήκες. Η μελέτη έδειξε πως τα NOBs ήταν πιο ευαίσθητα, αφού για μια αύξηση της συγκέντρωσης της FA από 0 σε 16.82 mg NH₃-N /L, η δραστηριότητα των AOBs και των NOBs μειώθηκε κατά 15.9%, και κατά 29.2%, αντίστοιχα, ενώ παρατηρήθηκε συσσώρευση νιτρικών κατά τη διάρκεια της νιτροποίησης.

Οι Cao et al. (2017) εξέτασαν την επίδραση υψηλής συγκέντρωσης FA στην απομάκρυνση θρεπτικών ουσιών σε ένα αντιδραστήρα SBR. Βραχυπρόθεσμα, η έκθεση σε FA δεν επηρέασε σημαντικά την απομάκρυνση των θρεπτικών, μακροπρόθεσμα, όμως, υπήρξαν αρνητικές επιπτώσεις, κυρίως ως προς την απομάκρυνση του NH₄⁺-N, η οποία μειωνόταν με την αύξηση της συγκέντρωσης FA. Τα ανασταλτικά αποτελέσματα στη νιτροποίηση ήταν εμφανή, παρεμποδίζοντας την οξειδωση των NO₂-N και οδηγώντας σε συσσώρευση νιτρικών στο αερόβιο στάδιο. Όπως και σε προηγούμενες αναφορές, η επίδραση στα NOBs παρατηρήθηκε πιο έντονη απ' ό,τι στα AOBs. Αρνητικά επηρεάστηκε και η απομάκρυνση του φωσφόρου. Από την άλλη, η επίδραση της FA στην απομάκρυνση των οργανικών ήταν ασήμαντη και η μειωμένη αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης του COD αποδόθηκε, κυρίως, στη συσσώρευση NO₂-N, ενώ οι ανασταλτικές επιδράσεις στα βακτηρίδια απονιτροποίησης σε ανοξικές συνθήκες ήταν περιορισμένες. Όσον αφορά τη μικροβιακή ποικιλομορφία, παρατηρήθηκε μείωση της αφθονίας βασικών μικροοργανισμών, που είναι υπεύθυνοι για την αφαίρεση θρεπτικών ουσιών, δηλαδή NOBs, AOBs και PAOs, με συνεπαγόμενη μείωση της απόδοσης απομάκρυνσης των αντίστοιχων θρεπτικών. Σημειώνεται πως οι ανασταλτικές επιδράσεις του FA θα μπορούσαν να περιοριστούν, εν μέρει, αν υπάρξει περίοδος εγκλιματισμού στη ψηλή συγκέντρωση FA, καθώς η αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης του NH₄⁺-N βελτιώθηκε μετά από 9 κύκλους.

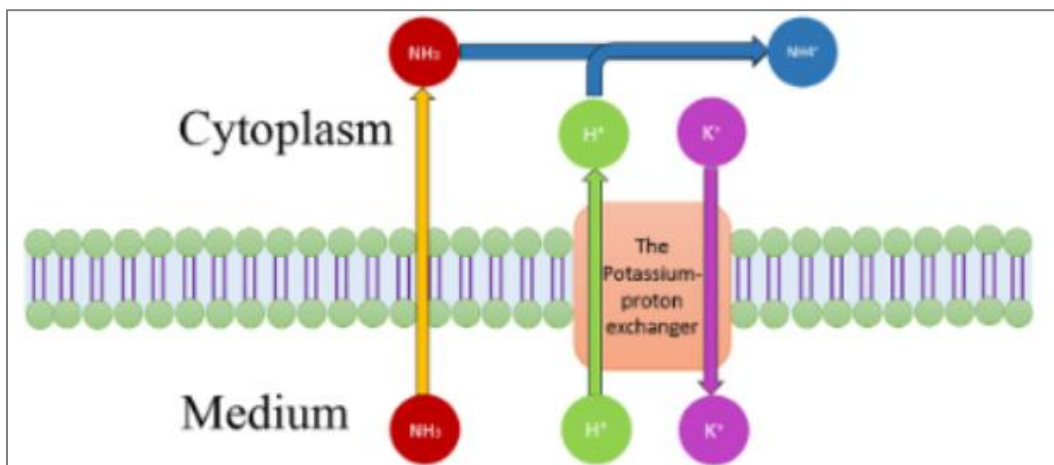
Η FA επηρεάζει, ακόμη, την αναερόβια χώνευση. Οι McCarty et al. (1961) ανακάλυψαν ότι η συγκέντρωση των 150 mg/L ήταν εντελώς ανασταλκτική για την αναερόβια χώνευση, οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή μεθανίου και βιοαερίου και, τελικά, σε αστοχία του αντιδραστήρα. Από την άλλη, οι Yenigün et al. (2013) σημειώνουν πως αν η μικροβιακή κοινότητα στον αναερόβιο χωνευτή εγκλιματιστεί σταδιακά σε αυξανόμενα επίπεδα αμμωνίας, ο αναερόβιος χωνευτής μπορεί να λειτουργήσει ακόμη και σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας, χωρίς να διακυβεύεται η ασφάλειά του. Οι Belmonte et al. (2011) αναφέρουν 80% αναστολή της μεθανογενούς δραστηριότητας για συγκέντρωση FA = 40 mg NH₃-N /L, ενώ οι Shi et al. (2017) παρατήρησαν αναστολή της μεθανογένεσης, με συνεπαγόμενη συσσώρευση VFA και μειωμένη παραγωγή μεθανίου, για FA = 45 mg NH₃-N /L. Επιπλέον, εκτός από τη μεθανογένεση, η FA αναστέλλει και την υδρόλυση, την οξογένεση και την ομοοακετογένεση σε κάποιο βαθμό (Xu et al., 2018a; Zhang et al., 2018). Οι Rajagopal et al. (2013) ανέφεραν ότι η FA θα μπορούσε να αλλάξει το ενδοκυτταρικό pH και έτσι να επηρεάσει συγκεκριμένες αντιδράσεις, προκαλώντας την αναστολή των μεθανογενών δραστηριοτήτων. Συγκεκριμένα, οι Zhao et al. (2018) αναφέρουν την μείωση της δραστηριότητας ενζύμων υπεύθυνων για την υδρόλυση, την παραγωγή οξικών και την παραγωγή μεθανίου με την αύξηση της συγκέντρωσης FA από 0.09 στα 6.87 mg NH₃-N /L.

Οι Liu et al. (2019) συγκέντρωσαν τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις FA που έχουν αναφερθεί να επηρεάζουν τους βασικούς μικροβιακούς πληθυσμούς μιας ΕΕΛ κατά 40% - 100%. Φαίνεται ότι οι περισσότεροι μικροοργανισμοί, δηλαδή AOBs, απονιτροποιητές, Anammox, PAOs και μεθανογόνα βακτήρια, είναι γενικά πιο ανθεκτικοί στην αναστολή FA σε σχέση με τα NOBs. Η χαμηλότερη συγκέντρωση FA που αναφέρεται να αναστέλλει τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς, πλην τα NOBs, είναι άνω των 10 mg NH₃-N /L, ενώ οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις που αναστέλλουν τα NOBs κατά 50% και το 100% είναι 0.7 και 6 mg NH₃-N/L, αντίστοιχα. Έτσι, λαμβάνοντας υπόψη τα φυσιολογικά επίπεδα FA στη γραμμή επεξεργασίας λυμάτων και στη γραμμή επεξεργασία λάσπης, όπως παρουσιάστηκαν σε προηγούμενη παράγραφο, δηλαδή 0.14 - 1.38 mg NH₃-N /L και 30 - 560 mg NH₃-N /L αντίστοιχα, προκύπτει ότι οι επιπτώσεις της FA σε AOBs, απονιτροποιητές, Anammox και το

PAOs είναι σχετικά ασήμαντες, αλλά θα μπορούσε να επηρεάσει σημαντικά τη μεθανογένεση, οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή μεθανίου.

Επίσης, στη μελέτη των Zheng et al. (2013a), όπου μελετήθηκε η επίδραση της FA στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, αναφέρεται επιδείνωση της καθαρισιμότητας και της μορφολογίας της ιλύος, μείωση των σωματιδίων και αποσύνθεση των κόκκων, ενώ το ανασταλτικό όριο της FA καθορίστηκε στα 17.76 mgN/L. Παράλληλα, επηρεάστηκε αρνητικά μικροβιακή κοινότητα του συστήματος, καθώς και η απομάκρυνση του φωσφόρου. Η επίδραση της FA στην τελευταία, θα αναλυθεί σε επόμενη ενότητα (βλ. 2.5.6).

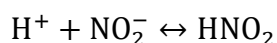
Τέλος, στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι η FA μπορεί να επιβραδύνει συγκεκριμένες μικροβιακές δραστηριότητες ή ακόμα και να αναδιαμορφώσει τη δομή της μικροβιακής κοινότητας, πιθανώς λόγω αρνητικών επιπτώσεων στο ενδοκυτταρικό pH, σε συγκεκριμένα ένζυμα και στις εξωκυτταρικές πολυμερείς ουσίες (EPS), προκαλώντας κυτταρική λύση (Liu et al., 2019; Zhang et al., 2018; Wang et al., 2017). Επίσης, η FA μπορεί να οδηγήσει σε ανισοροπία πρωτονίων ή ανεπάρκεια καλίου (K^+), περνώντας μέσω παθητικής διάχυσης από την κυτταρική μεμβράνη στο κυτταρόπλασμα, προκαλώντας αλλαγή στο pH, λόγω της απορρόφησης των πρωτονίων κατά τη μετατροπή της FA σε αμμώνιο (Σχήμα 2.3) (Ferreira et al., 2007; Kayhanian et al., 1999). Για να διατηρήσουν το ενδοκυτταρικό pH και να εξισορροπήσουν τα πρωτόνια, τα κύτταρα καταναλώνουν ενέργεια, ενώ για να αντισταθμιστεί το αλκαλικό φορτίο, το κύτταρο αντλεί πρωτόνια (Martinelle et al., 1993; McQueen et al., 1990). Αυτό ίσως επιταχύνει την προς τα μέσα μεταφορά FA, λόγω αλκαλοποίησης εκτός του κυττάρου. Παράλληλα, το μεταφερόμενο κάλιο πρέπει να αντληθεί για να διατηρηθεί η διαβάθμιση του μέσα στο κύτταρο (Decrey et al., 2016), οδηγώντας σε μείωση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης K^+ , το οποίο αποτελεί σημαντικό παράγοντα για πολλά ένζυμα (Müller et al., 2006). Οι συνολικές ενεργειακές απαιτήσεις για συντήρηση αυξάνονται λόγω της ανάγκης διατήρησης των διαβαθμίσεων ιόντων πάνω στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και, ενδεχομένως, προκαλείται αναστολή ειδικών ενζυμικών αντιδράσεων (Dai et al., 2017).



Σχήμα 2.3: Μηχανισμοί επίδρασης της FA στο ενδοκυτταρικό pH (Liu et al., 2019)

2.2.5 Ελεύθερο νιτρώδες οξύ (FNA)

Το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (Free Nitrous Acid – FNA) αποτελεί την πρωτονιομένη κατάσταση των νιτρωδών. Δημιουργείται κατά τη διεργασία της νιτρωδοποίησης, όπου παράγονται ιόντα υδρογόνου, που ρίχνουν το pH της υγρής φάσης, και τα οποία αντιδρούν με τα νιτρώδη σχηματίζοντας το FNA ως εξής (Anthonisen et al., 1976):



Μπορεί να σχηματιστεί στα οικιακά απόβλητα που περιέχουν ουρία (δηλαδή αμμωνία) (Zheng et al., 2017), αλλά και στο υγρό από την αναερόβια χώνευση, δηλαδή τα στραγγίδια (Law et al., 2015). Συνήθως, σε ένα βιοαντιδραστήρα τα επίπεδα του FNA είναι αμελητέα, επειδή η συγκέντρωση της αμμωνίας στα οικιακά λύματα είναι συνήθως μικρότερη από 60 mg $\text{NH}_4^+ - \text{N} / \text{L}$, όμως στα στραγγίδια όπου η συγκέντρωση της αμμωνίας είναι ψηλή, της τάξεως του 1 g $\text{NH}_4^+ - \text{N} / \text{L}$, μπορεί να ανιχνευτεί σε μεγάλο βαθμό (Wang et al., 2017).

Η συγκέντρωσή του εξαρτάται από τη συγκέντρωση των νιτρωδών. Η ισορροπία των δύο μορφών επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και το pH, καθώς όσο χαμηλότερο είναι το pH τόσο μεγαλύτερη και η συγκέντρωση του FNA. Αυξάνοντας το pH από 7 σε 8, η συγκέντρωση FNA μπορεί να μειωθεί κατά 90%. Επιπλέον, η σχέση της θερμοκρασίας και

της συγκέντρωσης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος είναι αντιστρόφως ανάλογη, δηλαδή με την αύξηση της θερμοκρασίας, μειώνεται το FNA, αν και επηρεάζει τη συγκέντρωσή του σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με το pH. Οι συγκεντρώσεις του FNA είναι περίπου 20 - 25% υψηλότερες στους 10 °C σε σύγκριση με τους 20 °C, και ομοίως για τους 20 °C έναντι στους 30 °C (Zhou et al., 2011).

Για τον υπολογισμό της συγκέντρωσής του ελεύθερου νιτρώδους οξέος συναρτήσει της θερμοκρασίας και του pH χρησιμοποιείται ο ακόλουθος τύπος (Anthonisen et al., 1976):

$$\text{FNA} \left(\frac{\text{mgHNO}_2}{\text{L}} \right) = \frac{\text{NO}_2 - \text{N}_{\text{ολικό}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)}{\text{Ka} \times 10^{\text{pH}}}$$

Όπου Ka: σταθερά ιονισμού της εξίσωσης ισορροπίας νιτρωδών, $\text{Ka} = e^{\frac{-2300}{273+T(^{\circ}\text{C})}}$

Τοξικότητα του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA)

Το ελεύθερο νιτρώδες οξύ λόγω της τοξικότητάς του μπορεί να προκαλέσει σοβαρές επιπτώσεις στην ποιότητα των λυμάτων. Σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να μειώσει ή ακόμη και να σταματήσει εντελώς τις μικροβιακές δραστηριότητες και να διαμορφώσει τον μικροβιακό πληθυσμό του συστήματος.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το ελεύθερο νιτρώδες οξύ είναι γνωστό ότι επηρεάζει τα βακτήρια AOBs και NOBs, επιδρώντας στο μεταβολισμό τους, με τα NOBs να είναι πιο ευαίσθητα (Vadivelu et al., 2006a; Philips et al., 2002), ενώ σχετικά με τον εγκλιματισμό, φαίνεται ότι τα AOBs εγκλιματίζονται σε ψηλότερες συγκεντρώσεις, καθώς, οι Duan et al. (2018) αναφέρουν ότι, ενώ τα βακτήρια AOBs ήταν σε θέση να εγκλιματιστούν σε συγκέντρωση FNA ύψους 4.23 mgN/L, τα NOBs μπόρεσαν να εγκλιματιστούν μόνο σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, μικρότερες των 1.35 mgN/L, αποδεικνύοντας την ευαισθησία των τελευταίων.

Έρευνες έχουν υποστηρίξει τη μείωση του πληθυσμού τους, ειδικά του γένους *Nitrospira* sp., λόγω παρουσίας FNA (Wang et al., 2016). Επίσης, οι Zheng et al. (2021) παρατήρησαν

μείωση δύο τάξεων μεγέθους του πληθυσμού των NOBs όταν είχαν εκτεθεί για 24 ώρες σε συγκέντρωση FNA μεγαλύτερη του 1 mg HNO₂-N/L, ενώ σε μακροπρόθεσμη εφαρμογή ο ρυθμός ανάπτυξής τους αποκαταστήθηκε, υποδηλώνοντας ότι υπάρχει η δυνατότητα εγκλιματισμού των βακτηρίων αυτών στη παρουσία του ελεύθερου νιτρώδες οξέος.

Γενικά, οι ανασταλτικές συγκεντρώσεις του ελεύθερου νιτρώδες οξέος στα βακτήρια NOBs διαφέρουν στη βιβλιογραφία. Οι Anthonisen et al. (1976) αναφέρουν πρώτη φορά ανασταλτική δράση στη διαδικασία της νιτροποίησης για συγκέντρωση FNA = 0.22 - 2.8 mg HNO₂ -N/L, οι Hellinga et al. (1999) σημειώνουν ανασταλτική συγκέντρωση FNA = 0.21 mg HNO₂ -N/L, ενώ οι Fux et al. (2003) σημειώνουν μείωση του ρυθμού οξείδωσης αμμωνίας κατά 20% - 25% στα 0.162 mg HNO₂ - N/L. Επιπλέον, το ελεύθερο νιτρώδες οξύ φαίνεται να επηρεάζει, εκτός από την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, και την παραγωγή ενέργειας. Η αναστολή της ανάπτυξης σε μια καλλιέργεια *Nitrosomonas* ξεκίνησε σε περίπου 0.10 mgHNO₂-N/L και η βιοσύνθεση σταμάτησε εντελώς σε συγκέντρωση FNA ίση με 0.40 mgHNO₂-N/L. Η αναστολή της παραγωγής ενέργειας ξεκίνησε σε ελαφρώς χαμηλότερη συγκέντρωση, όμως ο ρυθμός οξείδωσης της αμμωνίας από τα *Nitrosomonas* μειώθηκε στο μισό του μέγιστου σε συγκέντρωση FNA ίση με 0.50 - 0.63 mg HNO₂ - N/L (Vadivelu et al., 2006a). Η αναστολή των αναβολικών και καταβολικών δραστηριοτήτων των NOBs παρατηρήθηκε και από τους Vadivelu et al. (2007) τόσο για το γένος *Nitrobacter*, όσο και για το *Nitrosomonas*. Η συγκέντρωση FNA = 0.40 - 0.63 mgHNO₂-N/L ανέστειλε την ικανότητα παραγωγής ενέργειας του *Nitrosomonas* κατά 50%, ενώ η διαδικασία ανάπτυξης της καλλιέργειας παρεμποδίστηκε πλήρως από το FNA σε συγκέντρωση 0.40 mgHNO₂-N/L. Η βιοσύνθεση του *Nitrobacter* παρεμποδίστηκε πλήρως για FNA = 0.02 mgHNO₂-N//L, ενώ η παραγωγή ενέργειας δεν παρουσίασε αναστολή όταν η συγκέντρωση έπεσε μέχρι τα 0.024 mgHNO₂-N//L. Από την άλλη, αναφέρεται αναστολή στις αναβολικές διεργασίες του *Nitrobacter* για συγκέντρωση FNA = 0.011 mg HNO₂ - N/L και πλήρης παύση της σύνθεσης βιομάζας για συγκέντρωση FNA = 0.023 mg HNO₂ - N/L (Vadivelu et al., 2006c).

Οι Torà et al. (2010) διαπίστωσαν ότι σε καταστάσεις με περιορισμένο ανόργανο άνθρακα η ανασταλτική επίδραση του FNA στα βακτήρια AOBs αυξάνεται, όμως αυτό έρχεται σε

αντίθεση με τη μελέτη των Vadivelu et al. (2006a), γεγονός που εξηγείται (και ταυτόχρονα αποδεικνύει) ότι η διαφορά στην μικροβιακή κοινότητα ενός συστήματος προκαλεί και διαφορετικά συμπεράσματα σχετικά με την ανασταλτική δράση του FNA στους μικροοργανισμούς. Η επίδραση του FNA διαφέρει ανάμεσα στα διαφορετικά είδη και γένη μικροοργανισμών. Για παράδειγμα, το *Nitrospira* έχει αναφερθεί ότι είναι πιο ευαίσθητο στο FNA από το *Nitrobacter* (Blackburne et al., 2007), ενώ παρατηρήθηκε πλήρης αναστολή της πρόσληψης οξυγόνου σε συγκέντρωση FNA μικρότερη από 0.03 mg HNO₂-N/L.

Σημειώνεται ότι η αναστολή του FNA στη νιτροποίηση θεωρείται αναστρέψιμη. Οι Yang et al. (2003) διαπίστωσαν ότι η περίοδος ανάκτησης της νιτροποιητικής ικανότητας των μικροοργανισμών από την αναστολή του FNA διήρκεσε περίπου 12 ημέρες.

Όσον αφορά την επίδραση του ελεύθερου νιτρώδες οξέος στην απονιτροποίηση, οι Abeling et al. (1992) παρατήρησαν αναστολή στα απονιτροποιητικά βακτήρια για FNA = 0.04 mg HNO₂ – N/L, ενώ οι Glass et al. (1997) σημειώνουν τη μικρότερη συγκέντρωση αναστολής ίση με 0.02 mg HNO₂ – N/L. Επίσης, οι Almeida et al. (1995) έδειξε ότι η ανάπτυξη των κυττάρων σταμάτησε εντελώς για FNA = 0.066 mg HNO₂-N/L. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε αναστολή του πρωτογενούς μεταβολισμού συμπεριλαμβανομένης της μείωσης των νιτρικών, της κατανάλωσης πηγής άνθρακα και της μείωσης των νιτρωδών. Υποστήριξαν ότι το νιτρώδες λειτούργησε ως αποσύνδεση ανάπτυξης, και ιδιαίτερα ως αποσύνδεση πρωτονίων. Από την άλλη, οι Ma et al. (2010) μελέτησαν την ανασταλτική επίδραση του FNA στην αναγωγή των νιτρικών και νιτρωδών, διαπιστώνοντας μείωση της αναγωγής των νιτρικών στο 40% για ένα εύρος συγκέντρωσης FNA 0.01- 0.025 mg HNO₂ – N/L και πλήρης αναστολή όταν έγινε ίσο με FNA 0.2 mg HNO₂ – N/L. Αντίστοιχα με την περίπτωση των νιτροποιητών, το όριο αναστολής του FNA είναι συνάρτηση των χαρακτηριστικών της μικροβιακής κοινότητας, καθώς και άλλων λειτουργικών παραγόντων (Zhou et al., 2011).

Η επίδραση του ελεύθερου νιτρώδες οξέος στους υπόλοιπους μικροοργανισμούς δεν είναι τόσο τεκμηριωμένη. Για τα βακτήρια *Anaeromox* δεν υπάρχουν πολλές βιβλιογραφικές αναφορές που να αποδεικνύουν ότι το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (και όχι τα νιτρώδη) είναι ο

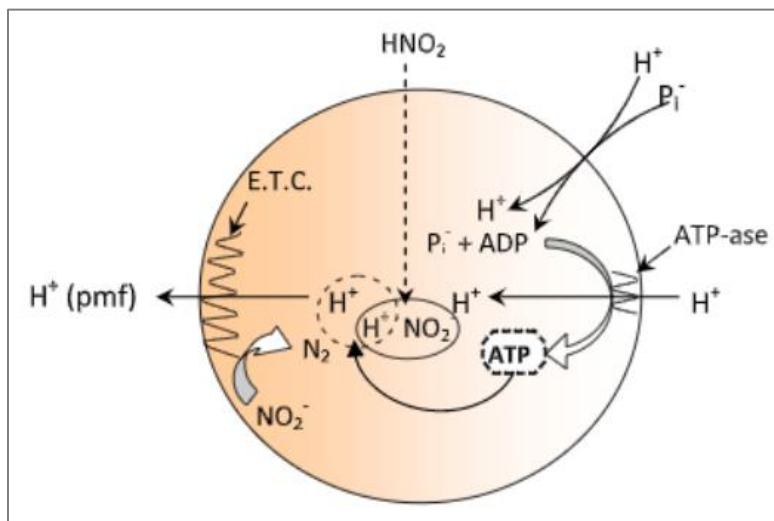
πραγματικός αναστολέας. Οι Egli et al. (2001) έδειξαν ότι η δραστηριότητα των Anapitox σε σταθερή συγκέντρωση νιτρωδών αναστέλλεται σε pH 6.0 – 6.5, ενώ είναι βελτιωμένη σε υψηλότερο pH (7.5 – 8.0), υποδηλώνοντας ότι το FNA ήταν στην πραγματικότητα ο αναστολέας. Ακόμη, μια εμπλουτισμένη καλλιέργεια Anapitox βακτηρίων παρουσίασε αναστολή στη δραστηριότητά της για FNA = 6×10^{-3} mg HNO₂ – N/L (Strous et al., 1999b), ενώ η καλλιέργεια των Egli et al. (2001) αναστάληκε για FNA = 0.04 mg HNO₂ – N/L. Ούτε η ανασταλτική δράση στα μεθανογόνα βακτήρια έχει αναφερθεί εκτενώς, εντούτοις γενικά είναι βακτήρια είναι πολύ ευαίσθητα σε περιβαλλοντικές συνθήκες. Σημειώνεται ότι το FNA έχει αποδειχθεί η κύρια αιτία μείωσης της μεθανογονικής δραστηριότητας και των θειικών στους υπόνομους, μειώνοντας τόσο τις εκπομπές αερίων του θερμοκηπίου όσο και την παραγωγή διαβρωτικών σουλφιδίων (Jiang et al., 2011). Τέλος, σχετικά με τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια, γίνεται αναλυτική αναφορά σε επόμενη ενότητα (βλ. 2.5.7).

Γενικά, ο αντίκτυπος της αναστολής του FNA εξαρτάται από τη μικροβιακή κοινότητα που υπάρχει στη λάσπη. Επιπλέον, όταν οι μικροοργανισμοί εγκλιματίζονται στο FNA, δείχνουν μεγαλύτερη ανεκτικότητα. Η παρουσία του FNA μπορεί να αναδιαμορφώσει τη δομή της μικροβιακής κοινότητας και μπορεί ενδεχομένως να προσφέρει πλεονεκτήματα σε κάποιους μικροοργανισμούς έναντι των ανταγωνιστών τους και να επηρεάσει την απόδοση της μονάδας επεξεργασίας ως προς την απομάκρυνση φωσφόρου (επιδρώντας στον ανταγωνισμό μεταξύ PAOs – GAOs) και την απομάκρυνση αζώτου (επιδρώντας στα NOBs) (Pijuan et al., 2010b; Ma et al., 2010; Vadivelu et al., 2006a).

Ο πιο προφανής τρόπος για τη μείωση της συγκέντρωσης του FNA στις ΕΕΛ είναι η αύξηση του pH. Ενώ ο έλεγχος pH είναι μια ευεργετική στρατηγική για τη μείωση της αναστολής του FNA, εφαρμόζεται σπάνια λόγω του σχετικού κόστους της προσθήκης χημικών ελέγχου του pH. Από την άλλη, το υπερβολικά υψηλό pH (> 8.5) έχει σαν συνέπεια την αύξηση της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας, η οποία, όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενη ενότητα, είναι επίσης τοξική. Επίσης, ψυχρότερα κλίματα ή οι χειμερινές συνθήκες είναι πιο πιθανό να οδηγήσουν σε αναστολή του FNA, όμως ο έλεγχος της θερμοκρασίας μιας ΕΕΛ δεν είναι πρακτικά εφικτός, καθώς συνεπάγεται μεγάλο κόστος (Zhou et al., 2011).

Ο μηχανισμός δράσης του ελεύθερου νιτρώδες οξέος δεν έχει πλήρως κατανοηθεί. Έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να επηρεάσει πολλές μεταβολικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της ενεργού μεταφοράς υποστρωμάτων μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, της πρόσληψης οξυγόνου, καθώς και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Έχει ακόμη αναφερθεί ότι το FNA έχει ισχυρότερη ανασταλτική επίδραση στις αναβολικές διεργασίες που καταναλώνουν ενέργεια (π.χ. ανάπτυξη κυττάρων, παραγωγή γλυκογόνου και πρόσληψη φωσφόρου) παρά στις καταβολικές διεργασίες που παράγουν ATP, αν και μπορεί να επηρεάσει και τα δύο είδη διεργασιών (Ye et al., 2010; Pijuan et al., 2010b; Vadivelu et al., 2006a,c).

Το FNA διαπερνά τη κυτταρική μεμβράνη. Ως προς την παραγωγή ενέργειας, αναστέλλει τη σύνθεση ATP και διάφορες αντιδράσεις που καταλύονται από την ATPάση, χωρίς όμως να αναστείλει τη μεταφορά ηλεκτρονίων (Rottenberg et al., 1990). Διαπερνώντας την κυτταρική μεμβράνη, μεταφέρει πρωτόνια και από τις δύο πλευρές, αντισταθμίζοντας το αποτέλεσμα άντλησης πρωτονίων της ATPάσης και αναστέλλοντας τη παραγωγή ενέργειας. Έτσι, οδηγεί σε κυτταρική οξίνιση (Mortensen et al., 2008). Λόγω της κατανάλωσης υψηλότερου ποσοστού ενέργειας για την άντληση πρωτονίων, η ενέργεια για ανάπτυξη και συντήρηση μειώνεται (Σχήμα 2.4) (Sijbesma et al., 1996; Almeida et al., 1995).



Σχήμα 2.4: Μηχανισμός αναχαίτισης FNA (Zhou et al., 2011)

Επιπλέον, οι (Zhou et al., 2010b; Zhou et al., 2007) ανέφεραν ότι τα επίπεδα ενδοκυτταρικού ATP του *Accumulibacter* μειώθηκαν από την έκθεση στο FNA και οι ρυθμοί μείωσης ήταν θετικά συσχετισμένοι με τις αυξανόμενες συγκεντρώσεις FNA, ενώ φάνηκε ότι αναστάληκε και η δραστηριότητα μεταφοράς ηλεκτρονίων, υποστηρίζοντας περαιτέρω αυτόν τον υποθετικό μηχανισμό. Παρ' όλα αυτά, όπως επισημαίνουν οι Sijbesma et al. (1996), αυτός ο μηχανισμός δεν συμβαίνει απαραίτητα σε κάθε οργανισμό.

Ως προς την επίδρασή του στα ένζυμα, το FNA μπορεί να αναγκάσει τα βακτήρια να ενεργοποιήσουν ή να απενεργοποιήσουν συγκεκριμένα ένζυμα για να «πολεμήσουν» την τοξικότητά του. Επιπλέον, μπορεί να επηρεάσει ένζυμα που εμπλέκονται επίσης στις μεταβολικές διεργασίες, ενώ μπορεί να απενεργοποιήσει τη 3-φωσφορική-γλυκεραλδεϋδη-αφυδρογονάση, ένα ένζυμο που εμπλέκεται τόσο στη γλυκόλυση όσο και στη γλυκονεογένεση (Hinze et al., 1986). Αυτό εξηγεί την αναφορά των Zhou et al. (2010b), οι οποίοι παρατήρησαν ότι η παραγωγή γλυκογόνου (γλυκονεογένεση) παρεμποδίστηκε σοβαρά υπό ανοξικές συνθήκες και η αποικοδόμηση γλυκογόνου (γλυκόλυση) δεν ανακτήθηκε πλήρως υπό αναερόβιες συνθήκες, ακόμη και μετά την απομάκρυνση του FNA. Τέλος, οι Zhou et al. (2007) αναφέρουν αναστολή του ενζύμου -PPK, το οποίο σχετίζεται άμεσα με την απομάκρυνση φωσφόρου, μεταφέροντας φώσφορο στις πολυφωσφορικές αλυσίδες.

2.3 Φώσφορος στα λύματα

2.3.1 Μορφές φωσφόρου

Η κατανόηση των διαφορετικών μορφών του φωσφόρου στα λύματα είναι απαραίτητη για την εφαρμογή της σωστής επεξεργασίας. Ο φωσφόρος που περιέχεται σε υδάτινο σώμα μπορεί να χωριστεί σε αδιάλυτο και διαλυτό φωσφόρο, σύμφωνα με τη φυσική μορφή, και σε οργανικό και ανόργανο φωσφόρο, σύμφωνα με τις χημικές ιδιότητες, ενώ ο ανόργανος

φωσφόρος είναι σχεδόν πάντα με τη μορφή διαλυτού φωσφόρου, συμπεριλαμβανομένων ορθοφωσφορικών και πολυφωσφορικών (Li et al., 2021; Tarayre et al., 2016).

Στα αστικά λύματα, τον συναντούμε κυρίως σε ανόργανη μορφή σε ορθοφωσφορικές ρίζες (PO_4^{-3} , HPO_4^{-2} , H_2PO_4^-) και πολυφωσφορικές αλυσίδες, με έρευνες να αναφέρουν πως πάνω από το 80% του ολικού φωσφόρου στα λύματα είναι σε ανόργανη μορφή (Carrillo et al., 2020; Andrés et al., 2018; Ge et al., 2015). Επιπλέον, συναντάται δεσμευμένος σε μη υδατοδιάλυτες οργανικές ύλες, όπως νουκλεοτίδια και φωσφατίδια, που αποτελούν συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών (Μαμάης Δ., 2020).

2.3.2 Πηγές φωσφόρου

Οι κύριες πηγές φωσφόρου στα λύματα είναι οι ανθρώπινες εκκρίσεις και τα οικιακά απορρυπαντικά. Τα οικιακά απορρυπαντικά αποτελούν περίπου το 30 - 50% του συνολικού ρυπαντικού φορτίου φωσφόρου. Επιπλέον, στο φορτίο του φωσφόρου δύναται να συμβάλλει η απορροή της βροχόπτωσης, εάν εφαρμόζονται συνδυασμένα συστήματα αποχέτευσης, ενώ η βιομηχανική χρήση φωσφόρου είναι αρκετά περιορισμένη, επομένως, τα σχετικά φορτία φωσφόρου στα βιομηχανικά λύματα είναι χαμηλά. Εμφανίζεται σε λύματα που προέρχονται κυρίως από τη βιομηχανία τροφίμων, κλωστοϋφαντουργικών προϊόντων, παραγωγής λιπασμάτων, ζωοτροφών και παραγωγής απορρυπαντικών (Kroiss et al., 2011; Sengupta et al., 2011). Στα αστικά λύματα, το φορτίο του φωσφόρου ανά κάτοικό κυμαίνεται συνήθως από 2.5 – 4.0 g/d (Ανδρεαδάκης, 2015).

2.3.3 Χημική απομάκρυνση φωσφόρου

Οι πιο σημαντικές χημικές μέθοδοι απομάκρυνσης φωσφόρου που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι η προσρόφηση, η κατακρήμνιση και η ιοντοανταλλαγή. Γενικά, οι φυσικοχημικές μέθοδοι επεξεργασίας μπορούν να επιτύχουν υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης φωσφόρου, της τάξης του 80-90% (Ανδρεαδάκης, 2015).

2.3.3.1 Χημική κατακρήμνιση φωσφόρου

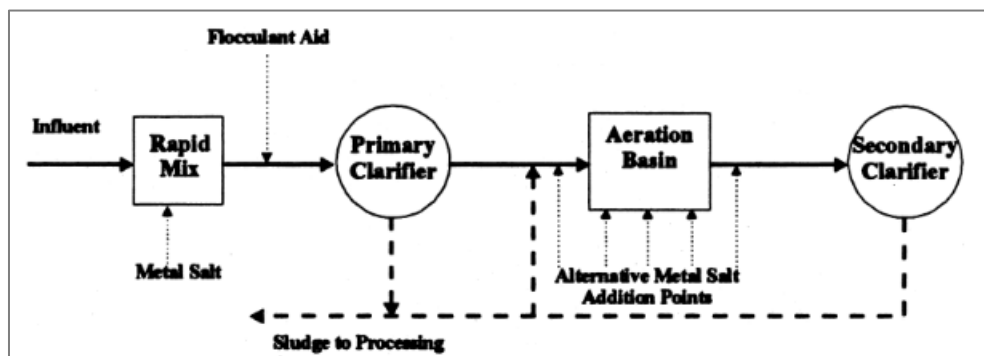
Η χρήση χημικών κροκιδωτικών για την απομάκρυνση του φωσφόρου στην επεξεργασία λυμάτων ξεκίνησε στην Ελβετία κατά τη δεκαετία του 1950 ως λύση αντιμετώπισης στο αυξανόμενο πρόβλημα του ευτροφισμού και έχει, πλέον, ευρεία εφαρμογή σε πολλές χώρες σε όλο τον κόσμο (Morse et al., 1998). Η χημική κατακρήμνιση είναι στην ουσία μια φυσικοχημική διαδικασία, η οποία περιλαμβάνει την προσθήκη ενός κροκιδωτικού που αντιδρά με τον διαλυτό φώσφορο και σχηματίζει στερεά ιζήματα φωσφόρου, τα οποία θα καθιζάνουν και θα απομακρυνθούν μαζί με τη λάσπη. Τα πιο συνηθισμένα κροκιδωτικά είναι ο ασβέστης (CaO) και τα άλατα του αργιλίου (Al) και του σιδήρου (Fe) (Li et al., 2021; Strom et al., 2006; Morse et al., 1998). Με αυτή τη μέθοδο απομακρύνεται οι ανόργανες μορφές φωσφόρου.

Οι Water Environmental Federation (2011) επισήμαναν ότι η αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης του φωσφόρου εξαρτάται από δύο παράγοντες: τη χημική ισορροπία μεταξύ της υγρής και της στερεάς φάσης του φωσφόρου και τη διαδικασία απομάκρυνση της στερεάς ουσίας που σχηματίζεται.

Είναι μια απλή μέθοδος στην εφαρμογή και μπορεί να επιτύχει ψηλά ποσοστά απομάκρυνσης φωσφόρου της τάξεως του 80-90% (Ανδρεαδάκης, 2015), όμως απαιτεί προσθήκη χημικών ουσιών που συνεπάγονται αύξηση της λάσπης που παράγεται (Strom et al., 2006).

Πρόκειται για μια ευέλικτη διαδικασία, δηλαδή μπορεί να εφαρμοστεί σε διάφορα στάδια κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας λυμάτων. Συγκεκριμένα, το κροκιδωτικό μπορεί να εισαχθεί στη δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης και ο φώσφορος να απομακρυνθεί με τη πρωτοβάθμια ιλύ ή στο βιολογικό αντιδραστήρα και η απομάκρυνση του φωσφόρου να γίνει με την απομάκρυνση της βιολογικής λάσπης. Οι διαδικασίες αυτές ονομάζονται προ-κατακρήμνιση και ταυτόχρονη κατακρήμνιση, αντίστοιχα (Abd Roni et al., 2020; Strom et al., 2006; Morse et al., 1998). Η προ-κατακρήμνιση μπορεί να συνδυαστεί με την χημικά υποβοηθούμενη καθίζηση, αφού η προσθήκη του κροκιδωτικού βοηθά στην καθίζηση των αιωρούμενων στερεών. Από την άλλη, επειδή η κυρίαρχη μορφή φωσφόρου στη ΔΠΚ είναι

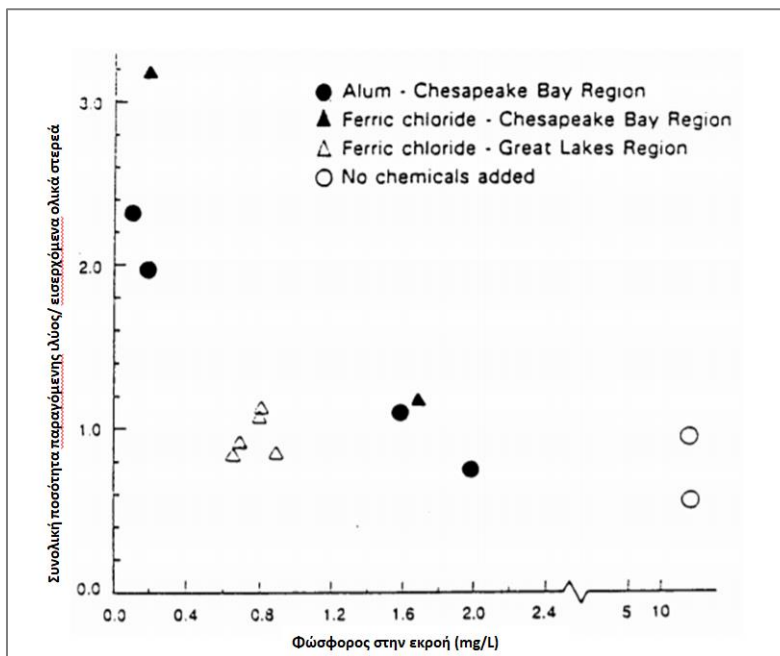
σε μορφή πολυφωσφορικών και οργανικού φωσφόρου, απαιτούνται μεγαλύτερες ποσότητες κροκιδωτικών σε σχέση με τα άλλα είδη κατακρήμνισης. Αντίστοιχα, η προσθήκη των κροκιδωτικών στο βιολογικό αντιδραστήρα συνεπάγεται βοήθεια κατά τη διαδικασία της τελικής καθίζησης και, άρα, βελτίωση της ποιότητας των επεξεργασμένων λυμάτων (Ανδρεαδάκης, 2015). Υπάρχει και η επιλογή της μετα-κατακρήμνισης, όπου το χημικό εισάγεται μετά την πρωτοβάθμια και δευτεροβάθμια επεξεργασία και τα ιζήματα αφαιρούνται σε χωριστή δεξαμενή καθίζησης ή σε αμμόφιλτρα, αν και αυτή η επιλογή δεν προτιμάται γενικά λόγω της δημιουργίας μιας πρόσθετης, χημικής, τριτοβάθμιας λάσπης (Morse et al., 1998).



Σχήμα 2.5: Εφαρμογή χημικής κατακρήμνισης (Morse et al., 1998)

Η χημική κατακρήμνιση αποτελεί την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την απομάκρυνση του φωσφόρου. Είναι οικονομικά αποδοτική, εύκολη στη χρήση σε μεγάλη κλίμακα και παρουσιάζει υψηλή ικανότητα αφαίρεσης του φωσφόρου, καθώς είναι σε θέση να μειώσει τη συγκέντρωση του φωσφόρου στις ΕΕΛ σε τιμές κάτω από 1 mg/L (Wilfert et al., 2015; Morse et al., 1998). Ωστόσο, συνήθως το κόστος για αυτή τη μέθοδο είναι μεγάλο, λόγω και της ανάγκης για προσθήκη μεγάλης δόσης χημικού, ενώ ενδέχεται να οδηγήσει στην παραγωγή νέων ρύπων, όπως χλωριούχα και το θειικά ιόντα. Επιπλέον, απαιτεί επίσης την απόρριψη της χημικής ιλύος που δημιουργείται (Xia et al., 2021; Abd Roni et al., 2020; Altundoğan et al., 2002). Αν η προσθήκη των μετάλλων γίνει στην πρωτοβάθμια επεξεργασία, η παραγόμενη ιλύς αυξάνεται κατά 50-100%, ενώ αν γίνει στη δευτεροβάθμια επεξεργασία, η παραγόμενη περίσσεια αυξάνεται κατά 30-40% (Μαμάης Δ., 2020). Στο

ακόλουθο σχήμα (Σχήμα 2.6), φαίνεται η παραγωγή της χημικής υλός λόγω της προσθήκης μετάλλων στην δευτεροβάθμια επεξεργασία για την απομάκρυνση φωσφόρου. Φαίνεται ότι η επίτευξη ιδιαίτερα χαμηλών συγκεντρώσεων στην εκροή συνεπάγεται μεγάλη αύξηση στην ποσότητα της παραγόμενης χημικής υλός.



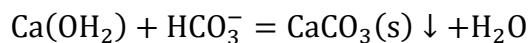
Σχήμα 2.6: Παραγωγή υλός συναρτήσει της συγκέντρωσης φωσφόρου στην εκροή (Μαμάης Δ., 2020)

Ασβέστης

Η χημική κατακρήμνιση με ασβέστη ήταν η πρώτη μέθοδος που εφαρμόστηκε και μπορεί να πετύχει απομάκρυνση φωσφόρου ίση με 90-95%. Η αρχή της κατακρήμνισης με ασβέστη είναι ότι τα άλατα ασβεστίου και τα φωσφορικά άλατα στα λύματα παράγουν αδιάλυτο φωσφορικό ασβέστη (Ramasahayam et al., 2014). Ο ασβέστης που προστίθεται μπορεί να αντιδράσει με τα ορθοφωσφορικά (HPO_4^{2-}) και με την αλκαλικότητα (HCO_3^-) και να δημιουργήσει ιζήματα φωσφορικού ασβεστίου και ανθρακικού ασβεστίου, αντίστοιχα, τα οποία θα καθιζάνουν και θα απομακρυνθούν.

Όσο ψηλότερο είναι το pH, τόσο χαμηλότερη είναι η διαλυτότητα του ασβεστίου και, άρα, τόσο καλύτερη η καθίζηση και η απομάκρυνση του φωσφόρου. Γενικά, προκειμένου να

επιτευχθεί ψηλή απομάκρυνση φωσφόρου, το pH πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 10 (Li et al., 2021). Για αυτές τις τιμές του pH η αντίδραση της αλκαλικότητας που περιέχεται στο νερό με τον ασβέστη περιγράφεται με την ακόλουθη εξίσωση (Μαμάης Δ., 2020):

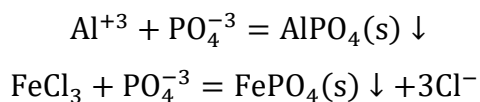


Λόγω του ότι προκαλεί αύξηση στο pH των λυμάτων, η προσθήκη ασβέστη προτιμάται να γίνεται στη δεξαμενή πρωτοβάθμιας καθίζησης, γιατί η αύξηση του pH μέχρις ενός ορίου δημιουργεί ευνοϊκές συνθήκες για την διαδικασία νιτροποίησης (Ανδρεαδάκης, 2015).

Καθώς ο προστιθέμενος ασβεστής αντιδρά και με τα ορθοφωσφορικά και με την αλκαλικότητα, απαιτείται η προσθήκη μεγαλύτερης ποσότητας από αυτή που χρειάζεται για την απομάκρυνση φωσφόρου, αφού ένα μέρος της θα καταναλωθεί για τη δημιουργία ανθρακικού ασβεστίου. Η απαιτούμενη δόση προσδιορίζεται περίπου ίση με 1.5 φορές την αλκαλικότητα του νερού (ως mg/L CaCO₃). Αυτό συνεπάγεται μεγαλύτερο κόστος και μεγαλύτερη παραγωγή λάσπης (Μαμάης Δ., 2020).

Άλατα αργιλίου και σιδήρου

Τα μεταλλικά άλατα που χρησιμοποιούνται είναι άλατα σιδήρου και άλατα αργιλίου και η αρχή της απομάκρυνσης του φωσφόρου είναι ότι τα μεταλλικά άλατα αντιδρούν με τις ορθοφωσφορικές ρίζες για να σχηματίσουν μεγάλα σωματίδια που είναι αδιάλυτα στο νερό, απομακρύνοντας έτσι τον φωσφόρο. Τα άλατα αργιλίου που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι θειικό αργίλιο και χλωριούχο αργίλιο, ενώ τα άλατα σιδήρου που χρησιμοποιούνται είναι θειικός σίδηρος και χλωριούχος σίδηρος (Li et al., 2021; Ramasahayam et al., 2014). Οι εξισώσεις που περιγράφουν τη χημική κατακρήμνιση είναι οι ακόλουθες (Μαμάης Δ., 2020):

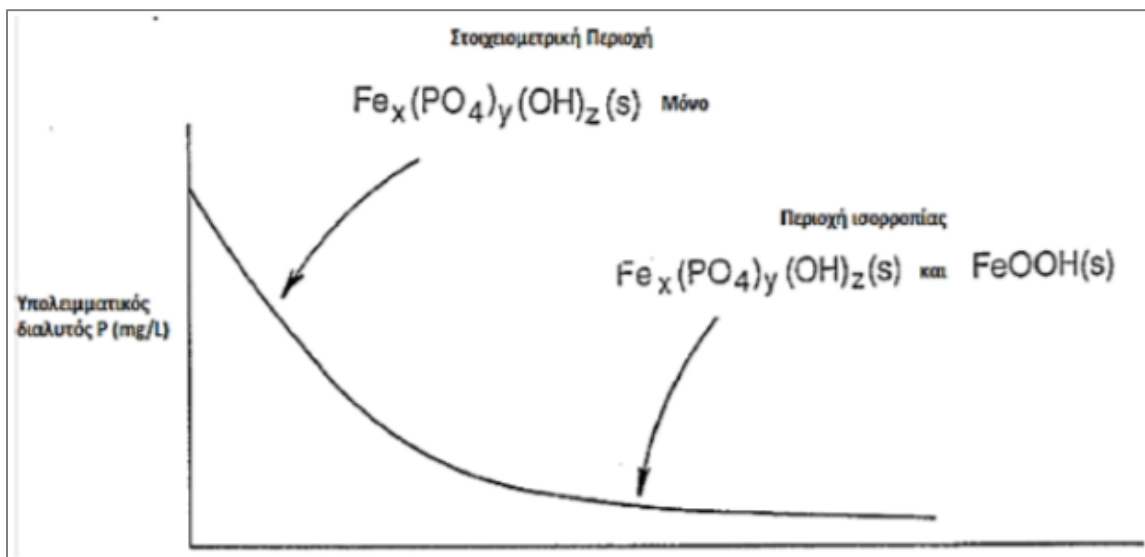


Βάση των εξισώσεων προκύπτει ότι χρειάζεται 1 mole σιδήρου ή αργιλίου για να καθιζάνει 1 mole φωσφόρου. Στην πράξη, λόγω της αλκαλικότητας των λυμάτων και του υδροξυλίου (OH⁻) με τα οποία αντιδρούν τα άλατα των μετάλλων, η απαιτούμενη προστιθέμενη ποσότητα των χημικών είναι μεγαλύτερη από την ποσότητα που θεωρητικά απαιτείται για την απομάκρυνση φωσφόρου. Επιπλέον, ο λόγος των απαιτούμενων χημικών προς την απομακρυνόμενη ποσότητα φωσφόρου αυξάνεται όσο η συγκέντρωση του φωσφόρου στη τελική εκροή μειώνεται (Μαμάης Δ., 2020).

Τα άλατα σιδήρου δεν είναι τόσο αποτελεσματικά άλατα, ωστόσο είναι σχετικά φθηνά και σχηματίζουν ένα καθιζάνον ίζημα σε σύντομο χρονικό διάστημα. Ιδιαίτερα ο σίδηρος με τη μορφή Fe (II) έχει σημαντικά οφέλη κόστους, ενώ σε περιβάλλοντα με υψηλή οξυγόνωση, το Fe (II) μπορεί να μετατραπεί σε Fe (III), το οποίο σχηματίζει ένα ισχυρό σύμπλοκο με τα φωσφορικά άλατα (Wilfert et al., 2015; Ramasahayam et al., 2014).

Κατά τη διάρκεια ολόκληρης της διαδικασίας, η τιμή pH επηρεάζει, όχι μόνο το φαινόμενο καθίζησης, αλλά και τη διαλυτότητα του φωσφορικού μετάλλου. Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η διαλυτότητα του φωσφορικού μετάλλου, το βέλτιστο εύρος pH του άλατος σιδήρου και του άλατος αργιλίου είναι 5.0 – 5.5 και 6.0 - 7.0, αντίστοιχα. Αν και είναι μια απλή διαδικασία που επιτυγχάνει καλή απομάκρυνση φωσφόρου, η μεγάλη επιρροή του pH έχει ως αποτέλεσμα αυξημένο λειτουργικό κόστος (Li et al., 2021).

Επιπλέον, λόγω της προσθήκης των χημικών, παρατηρείται η δημιουργία δύο στερεών, ενός φωσφορικού μετάλλου και ενός υδροξειδίου του αργιλίου ή του σιδήρου. Η απομάκρυνση του φωσφόρου σε σχέση με τη δοσολογία του χημικού παρουσιάζεται στο ακόλουθο ενδεικτικό διάγραμμα.



Σχήμα 2.7: Δόση σιδήρου προς υπολειμματική συγκέντρωση φωσφόρου (Sedlak et al.,1999)

Βάση του πιο πάνω διαγράμματος (Σχήμα 2.7), προκύπτουν δύο περιοχές, η στοιχειομετρική περιοχή, η οποία παρατηρείται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις φωσφόρου, όπου η απομάκρυνση φωσφόρου είναι ευθέως ανάλογη της ποσότητας μετάλλου που προστίθεται, και η περιοχή ισορροπίας, η οποία παρατηρείται σε χαμηλές συγκεντρώσεις φωσφόρου, ενώ απαιτούνται πολύ μεγαλύτερες ποσότητες μετάλλων για την απομάκρυνση του φωσφόρου και η ποσότητα αυξάνει εκθετικά όσο ελαττώνεται η υπολειμματική συγκέντρωση του διαλυτού φωσφόρου (Μαμάης Δ., 2020).

2.3.3.2 Χημική προσρόφηση φωσφόρου

Η χημική προσρόφηση κερδίζει συνεχώς δημοτικότητα στην απομάκρυνση του φωσφόρου. Η λογική της μεθόδου βασίζεται στην ισχυρή ικανότητα προσρόφησης του φωσφόρου. Η προσρόφηση είναι μια διεργασία μεταφοράς μάζας κατά την οποία ένα συστατικό που βρίσκεται στην υγρή φάση (προσοροφούμενη ουσία), μεταφέρεται στη στερεή φάση (προσοροφητικό υλικό). Οι μηχανισμοί της προσρόφησης μπορεί να είναι μηχανικοί, δηλαδή δυνάμεις Van der Waals ή σε κάποιο μικρότερο βαθμό και χημικοί (Ανδρεαδάκης, 2008). Ο

διαλυμένος φωσφόρος προσροφάται σε κάποιο υλικό προσρόφησης, ενώ στη συνέχεια διαχωρίζεται από την υγρή φάση, για να επιτευχθεί η απομάκρυνση του φωσφόρου. Η μέθοδος αποτελεί μια αλληλουχία δύο διαδικασιών, μίας σχετικά γρήγορης, αναστρέψιμης διαδικασίας προσρόφησης και μίας σχετικά αργής, πρακτικά μη αναστρέψιμης διαδικασίας καθίζησης (Arias et al., 2006).

Το προσροφητικό υλικό πρέπει να έχει μεγάλη επιφάνεια, ενώ το μέγεθος της σπής του προσροφητικού έχει μεγάλη επίδραση στον όγκο και στο ρυθμό προσρόφησης (Li et al., 2021). Με την μέθοδο αυτή υπάρχει η δυνατότητα εκρόφησης του φωσφόρου από το υλικό προσρόφησης και την αναγέννηση του ανακτηθέντος φωσφορικού από τα λύματα (Ramasahayam et al., 2014).

Ως προσροφητικά υλικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορα απλά υλικά, βιομηχανικά απόβλητα ή φθηνά μέταλλα, όπως, για παράδειγμα, χαλαζίας, σκωρία, ιπτάμενη τέφρα, ενεργός άνθρακας κλπ (Xia et al., 2021). Γίνεται εκτεταμένη έρευνα σε αυτά τα υλικά για να βρεθεί το πιο οικονομικό και αποδοτικό υλικό που μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην απομάκρυνση του φωσφόρου από τα λύματα, ενώ πολλοί ερευνητές εργάζονται για την ανάπτυξη τροποποιημένων προσροφητικών υλικών για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της απομάκρυνσης του φωσφόρου, τη μείωση του κόστους και την επιτυχημένη ανάκτηση του φωσφόρου (Gu et al., 2021; Ramasahayam et al., 2014).

Ειδικά η ιπτάμενη τέφρα φαίνεται να προσελκύει το ενδιαφέρον, αφού η χρήση της έχει μελετηθεί εκτενώς τα τελευταία χρόνια, καθώς αποτελεί ένα καλό προσροφητικό υλικό. Η ιπτάμενη τέφρα είναι ένα υπόλειμμα που προκύπτει από την καύση άνθρακα σε σταθμούς παραγωγής ενέργειας. Η αφθονία της και η εύκολη διαθεσιμότητά της την καθιστούν μια ισχυρή επιλογή στην έρευνα για έναν οικονομικό τρόπο απομάκρυνσης του φωσφόρου. Οι Ugurlu et al. (1998) σε μια μελέτη που πραγματοποίησαν, αναφέρουν πολύ υψηλή απομάκρυνση φωσφόρου (> 99.8%), ενώ, ακόμη και όταν η ποσότητα του προσροφητικού υλικού ήταν λίγη και χρησιμοποιήθηκαν μικρές ποσότητες ιπτάμενης τέφρας, η απομάκρυνση ήταν αρκετά υψηλή. Διαπιστώθηκε ότι η ποσότητα του προσροφημένου φωσφόρου στην ιπτάμενη τέφρα εξαρτάται από το pH του διαλύματος.

Επιπλέον, η βιβλιογραφία δείχνει ότι η σκωρία, ενώ έχει κάποια ικανότητα απομάκρυνσης του φωσφόρου από τα λύματα, δεν έχει την υψηλότερη ικανότητα σε σχέση με τα υπόλοιπα υλικά (Ramasahayam et al., 2014). Όσον αφορά το χαλαζία, οι (Arias et al., 2006) μελέτησαν την ικανότητα προσρόφησης του φωσφόρου σε σωματίδια χαλαζία με επίστρωση υδροξειδίου του σιδήρου και του αλουμινίου. Και στις δύο περιπτώσεις υπήρξε υψηλή ικανότητα προσρόφησης του φωσφόρου, αν και τα σωματίδια με οξείδια αλουμινίου πέτυχαν σημαντικά μεγαλύτερη απομάκρυνση φωσφόρου, παρέχοντας ένα εξαιρετικό υλικό για την κατασκευή ενός συστήματος προ-απορρόφησης για τα λύματα, το οποίο θα λειτουργούσε ως ένα συμπληρωματικό σύστημα φιλτραρίσματος για τη μείωση των επιπέδων του φωσφόρου στα λύματα.

Τα προσροφητικά υλικά έχουν τα πλεονεκτήματα του χαμηλού κόστους, του απλού εξοπλισμού και της μειωμένης παραγωγής λάσπης. Παράλληλα, τα υλικά που χρησιμοποιούνται είναι εύκολα διαθέσιμα και υπάρχει μεγάλο εύρος πηγών απ' όπου μπορούν να προκύψουν. Από την άλλη, μέχρι σήμερα η ικανότητα προσρόφησης είναι χαμηλή. Επίσης, το κόστος αντικατάστασης του προσροφητικού είναι πολύ υψηλό, ενώ η διαδικασία αναγέννησης και προσρόφησης θα παράγει, επίσης, μια επιπλέον ποσότητα λυμάτων (Li et al., 2021; Ugurlu et al., 1998).

2.3.3.3 Ιοντοανταλλαγή

Η ιοντοανταλλαγή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση της σκληρότητας, νιτρικών ιόντων ή άλλων ανόργανων συστατικών. Είναι μια διαδικασία κατά την οποία ιόντα του νερού αντικαθιστούν ευκίνητα ιόντα κατάλληλου ιοντανταλλάκτη και απομακρύνονται έτσι από το νερό, το οποίο με τη σειρά του εμπλουτίζεται με τα αρχικά ιόντα του ανταλλάκτη (Ανδρεαδάκης, 2008). Οι ανταλλάκτες περιέχουν οργανικές ουσίες μεγάλου βάρους, οι οποίες έχουν την ικανότητα να ανταλλάξουν ένα ιόν με ένα άλλο. Οι ουσίες αυτές ονομάζονται ρητίνες.

Όσον αφορά την απομάκρυνση φωσφόρου, αυτή επιτυγχάνεται με την ανταλλαγή των ιόντων με φωσφορικές ρίζες. Η κυρίαρχη μορφή του στα λύματα είναι ανιονική. Τα ακινητοποιημένα σωματίδια ενός μεταλλικού κατιόντος σχηματίζουν τη βάση ανταλλαγής, που ονομάζεται εναλλάκτης, στον οποίο τοποθετούνται εκλεκτικά φωσφορικά νανοσωματίδια (π.χ., οξείδιο του σιδήρου) (Zhao et al., 1998). Τα φωσφορικά ιόντα εναλλάσσονται μεταξύ του υγρού λυμάτων και του εναλλάκτη, προσφέροντας ταυτόχρονη αφαίρεση και ανάκτηση φωσφόρου (Martin et al., 2009). Η ικανότητα ανταλλαγής της ιοντοανταλλακτικής ρητίνης είναι σχετικά σταθερή, ενώ, ακόμα και μετά από πολλές αναγεννήσεις, η ικανότητά της μπορεί να διατηρηθεί υψηλή (Li et al., 2021).

Διάφορες μελέτες έχουν έδειξαν ότι το pH του διαλύματος παίζει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση των φωσφορικών και ότι το υψηλότερο pH είναι ευεργετικό για την απομάκρυνση του φωσφόρου. Ωστόσο, η παρουσία ορισμένων ιόντων, όπως Cl^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , επηρεάζει την απομάκρυνση του φωσφόρου (Li et al., 2021). Παρ' όλο που η τοποθέτηση φωσφορικών νανοσωματιδίων στον εναλλάκτη προκαλεί, θεωρητικά, την επιλογή φωσφορικών ανιόντων έναντι άλλων «ανταγωνιστικών» ιόντων, όπως θειικά ή χλωριούχα, αυτό, πρακτικά, αποδεικνύεται δύσκολο να επιτευχθεί λόγω της σχετικά χαμηλής αφθονίας των φωσφορικών ιόντων στα λύματα σε σύγκριση με τα ανταγωνιστικά είδη (Bunce et al., 2018).

Τα συστήματα ανταλλαγής ιόντων έχουν το πλεονέκτημα ότι παρέχουν ανάκτηση P μέσω μετα-επεξεργασίας. Ενώ έχουν επιτευχθεί υψηλοί ρυθμοί αφαίρεσης φωσφόρου σε εργαστηριακή κλίμακα, η εφαρμογή σε μεγάλη κλίμακα ήταν περιορισμένη λόγω της κακής επιλεκτικότητας των φωσφορικών ιόντων έναντι άλλων ιόντων, της ευαισθησίας στο pH, καθώς η αποτελεσματικότητα στο ουδέτερο εύρος του pH είναι μικρή, και το υψηλό λειτουργικό κόστος. Επιπλέον προβλήματα είναι το ψηλό κόστος της συνθετικής ρητίνης, το ψηλό κόστος αναγέννησης, η χαμηλή απόδοση αναγέννησης και η μεγάλη ευαισθησία της ρητίνης σε οργανική ρύπανση, πράγματα που καθιστούν τη μέθοδο αυτή δύσκολη για εφαρμογή (Li et al., 2021; Bunce et al., 2018; Zhao et al., 1998).

2.3.4 Βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου είναι μια μέθοδος που κερδίζει έδαφος τα τελευταία χρόνια (Nielsen et al., 2019; Ανδρεαδάκης, 2015). Η μέθοδος περιγράφηκε αναλυτικά για πρώτη φορά από τον James Barnard στη Νότια Αφρική τη δεκαετία του '70 (Barnard et al., 1976). Στη μέθοδο αυτή, ο φώσφορος απομακρύνεται με τη βοήθεια των πολυφωσφορικών βακτηριδίων (Polyphosphate accumulating organisms - PAOs). Πρόκειται για βακτηρίδια που είναι σε θέση να αποθηκεύουν σημαντικές ποσότητες φωσφόρου ενδοκυτταρικά, πολύ υψηλότερες από τις τυπικές απαιτήσεις μεταβολισμού (Von Sperling et al., 2007), και ευνοούνται με την εναλλαγή αναερόβιων – αερόβιων συνθηκών (Carvalho et al., 2007; Oehmen et al., 2004, Mino et al., 1998), οπότε για την εφαρμογή της είναι απαραίτητη η ύπαρξη αναερόβιου και αερόβιου αντιδραστήρα. Σημειώνεται ότι, ενώ τα κοινά βακτήρια έχουν μια περιεκτικότητα του φωσφόρου ίση με 2% - 3%, τα PAOS σε αερόβιες συνθήκες μπορούν να απορροφήσουν φωσφόρο έως και 12% (Li et al., 2021).

Στον αναερόβιο αντιδραστήρα, τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια προσλαμβάνουν οργανική τροφή και την αποθηκεύουν ως πολυυδροξυαλκανοϊκά (PHAs), ενώ, παράλληλα, απελευθερώνουν φώσφορο υπό τη μορφή ορθοφωσφορικών (Kodera et al., 2013). Είναι αναγκαία η επανακυκλοφορία της λύσης από τον αερόβιο στον αναερόβιο αντιδραστήρα για τον εμπλουτισμό της λάσπης με πολυφωσφορικά βακτηρίδια, καθώς έρχονται σε επαφή με τα λύματα της εισροής τα οποία είναι πλούσια σε εύκολα βιοαποικοδομήσιμη οργανική ύλη (Carvalheira et al., 2014b; Lopez-Vazquez et al., 2009b). Δίνεται, ουσιαστικά, ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα πολυφωσφορικά βακτηρίδια έναντι των υπολοίπων μικροοργανισμών του συστήματος (Bunce et al., 2018).

Στον αερόβιο αντιδραστήρα, τα PAOs χρησιμοποιούν το αποθηκευμένο PHA ως πηγή άνθρακα και ενέργειας, την οποία χρησιμοποιούν για την ανάπτυξη βιομάζας, την αναπλήρωση γλυκογόνου, την πρόσληψη ορθοφωσφορικών και την αποθήκευση τους ως πολυφωσφορικές αλυσίδες. Η απομάκρυνση φωσφόρου επιτυγχάνεται, εν τέλει, με την

φυσική απομάκρυνση της περίσσειας λάσπης, καθώς απομακρύνονται μαζί της τα PAOs, τα οποία έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε φωσφόρο (Lu et al., 2006; Blackall et al., 2002;7).

Αντί αερόβιου αντιδραστήρα, υπάρχει η δυνατότητα χρήσης ανοξικού αντιδραστήρα, όπου ως αποδέκτης ηλεκτρονίων θα είναι τα νιτρικά ή τα νιτρώδη, και όχι το οξυγόνο. Σε αυτή την περίπτωση, η απομάκρυνση του φωσφόρου γίνεται από μια κατηγορία πολυφωσφορικών βακτηριδίων, τα απονιτροποιητικά πολυφωσφορικά βακτηρίδια (Denitrifying polyphosphate accumulating organisms – DPAOs). Ταυτόχρονα με την πρόσληψη φωσφόρου, τα βακτηρίδια αυτά εκτελούν και απονιτροποίηση. Με αυτό τον τρόπο μπορεί να μειωθεί το λειτουργικό κόστος, λόγω εξοικονόμησης στον αερισμό και στις απαιτούμενες πηγές άνθρακα για την απονιτροποίηση, καθώς και να ελαττωθεί η παραγόμενη ιλύς (Li et al., 2021; Bunce et al., 2018; Oehmen et al., 2007; Carvalho et al., 2007).

Από την άλλη, η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου μπορεί να συνδυαστεί με την απομάκρυνση αζώτου μέσω νιτροποίησης – απονιτροποίησης σε διαφορετικούς αντιδραστήρες, χωρίς τη βοήθεια των DPAOs (Ανδρεαδάκης, 2015). Σε αυτή την περίπτωση, χρησιμοποιούνται αναερόβιες, ανοξικές και αερόβιες ζώνες όπου επιτελούνται απελευθέρωση φωσφόρου, απονιτροποίηση, νιτροποίηση και πρόσληψη φωσφόρου, αντίστοιχα (Camejo et al., 2016). Για την επιτυχημένη απομάκρυνση των θρεπτικών είναι απαραίτητη η ρύθμιση των συγκεντρώσεών τους στο σύστημα, καθώς υπάρχουν αναφορές για την ανασταλτική επίδραση των νιτρικών ή των νιτρωδών στα PAOs, καθώς και προβλήματα ανεπάρκειας οργανικού άνθρακα, ο οποίος χρησιμοποιείται και ως δότης ηλεκτρονίων για την απομάκρυνση των νιτρικών και ως πηγή τροφής για τα PAOs. Για το λόγο αυτό, η ευαίσθητη ισορροπία μεταξύ οργανικού άνθρακα, αζώτου και φωσφόρου έχει σημαντικό αντίκτυπο στην απομάκρυνση του φωσφόρου στα συστήματα βιολογικής απομάκρυνσης (Guerrero et al., 2011).

Όταν εφαρμόζεται σωστά, είναι μια αποτελεσματική, σχετικά φθηνή και περιβαλλοντικά φιλική μέθοδος, ενώ θεωρείται η πιο βιώσιμη τεχνολογία στην επεξεργασία λυμάτων για

την κάλυψη των όλο και πιο αυστηρών ορίων απόρριψης θρεπτικών ουσιών (Zeng et al., 2017; He et al., 2011; Guerrero et al., 2011). Τα οφέλη της έναντι των τεχνολογιών χημικής αφαίρεσης φωσφόρου είναι ακόμη πιο εμφανή όταν απαιτείται τριτοβάθμια επεξεργασία για την ικανοποίηση εξαιρετικά χαμηλών ορίων στην εκροή (Li et al., 2018b). Μεταξύ άλλων, τα πλεονεκτήματά της είναι το σημαντικά χαμηλότερο λειτουργικό κόστος, η μειωμένη παραγωγή ιλύος, η εξάλειψη των προβλημάτων αλατότητας των λυμάτων που εμφανίζονται κατά τη χημική απομάκρυνση φωσφόρου και το υψηλότερο δυναμικό επαναχρησιμοποίησης της παραγόμενης ιλύος (Blackall et al., 2002). Τα ποσοστά απομάκρυνσης φτάνουν μέχρι το 80%-90% (Xu et al., 2018b; Ramasahayam et al., 2014). Επιπλέον, η μέθοδος αυτή είναι πολύ δημοφιλής, καθώς η ζήτηση για επίτευξη χαμηλών συγκεντρώσεων φωσφόρου στην εκροή χωρίς προσθήκη χημικών, και κατ' επέκταση δημιουργία χημικών ιζημάτων, ολοένα και αυξάνεται (Nielsen et al., 2019). Η περίσσεια λάσπη που προκύπτει με αυτή τη μέθοδο είναι πλούσια σε φώσφορο και μπορεί να προστεθεί στους χωνευτές και να παραχθεί ένα απόβλητο με υψηλή συγκέντρωση διαλυτού φωσφόρου, κατάλληλο για να χρησιμοποιηθεί ως λίπασμα (Petriglieri et al., 2021). Σε σύγκριση με την χημική απομάκρυνση φωσφόρου, η βιολογική μέθοδος αποτελεί μια καλή επιλογή όταν επιθυμούνται ψηλά επίπεδα απομάκρυνσης φωσφόρου μαζί με ανάκτηση φωσφόρου από τα λύματα, κυρίως γιατί ο φώσφορος είναι ένας περιορισμένος, μη ανανεώσιμος, ιδιαίτερα χρήσιμος πόρος (Nielsen et al., 2019; Acevedo et al., 2017).

Ωστόσο, η σταθερότητα και η αξιοπιστία της μπορεί να αποτελέσουν πρόβλημα, καθώς ενδέχεται να προκύψουν αστοχίες και διαταραχές, ακόμα και σε συνθήκες φαινομενικά ιδανικές για την εφαρμογή της, ενώ παρατηρούνται διακυμάνσεις στην απόδοσή της (Bunce et al., 2018; He et al., 2011). Τέτοιες περιπτώσεις οδηγούν σε επιδείνωση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου, προκαλώντας παρατεταμένους περιόδους ανεπαρκούς απομάκρυνσης φωσφόρου, μη τηρώντας τα αντίστοιχα όρια στην εκροή. Για παράδειγμα, υψηλή βροχόπτωση, υπερβολική φόρτιση νιτρικών στον αναερόβιο αντιδραστήρα ή περιορισμός θρεπτικών ουσιών είναι μερικές συνθήκες που δυσχεραίνουν την εφαρμογή της μεθόδου (Oehmen et al., 2007). Άλλοι παράγοντες που έχουν παρατηρηθεί ότι

επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα και τη σταθερότητα της μεθόδου είναι η αναλογία άνθρακα προς φώσφορο, ο τύπος υποστρώματος, ο χρόνος παραμονής στερεών (SRT), ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT), η θερμοκρασία και το pH (Li et al., 2018b). Επίσης, η ύπαρξη μιας άλλης ομάδας μικροοργανισμών που λειτουργούν ανταγωνιστικά με τα PAOs ως προς την ενδοκυτταρική αποθήκευση της οργανικής τροφής, των οργανισμών συσσώρευσης γλυκογόνου (Glycogen accumulating organisms - GAOs), είναι μια άλλη αιτία αστοχίας. Τα GAOs μεταβολίζουν τα λιπαρά οξέα ή άλλες ενώσεις άνθρακα με παρόμοιο τρόπο με τα PAOs, χωρίς όμως να δεσμεύουν φώσφορο, και, άρα, μπορούν να προκαλέσουν μείωση της μικροβιολογικής κοινότητας των PAOs με συνεπαγόμενη μειωμένη απομάκρυνση φωσφόρου (Bunce et al., 2018). Περεταίρω ανάλυση των GAOs γίνεται σε επόμενη παράγραφο.

Γενικά, η κύρια πρόκληση που παρουσιάζεται όταν επιχειρείται ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου μέσω βιολογικών μεθόδων αφορά την επάρκεια της πηγής άνθρακα σε ένα σύστημα όπου συνυπάρχουν πολυφωσφορικά βακτηρίδια (PAOs και DPAOs), μη πολυφωσφορικά βακτηρίδια (GAOs και DGAOs), βακτηρία οξείδωσης αμμωνίας και νιτρωδών (AOBs και NOBs) και κοινά ετεροτροφικά βακτήρια, καθώς όλοι αυτοί οι μικροοργανισμοί ανταγωνίζονται μεταξύ τους για την οργανική τροφή και τα οικιακά λύματα θεωρούνται γενικά ως λύματα χαμηλής οργανικής φόρτισης (Wang et al., 2019; Karagiannidis et al., 2013).

2.4 Οργανισμοί εμπλεκόμενοι στην απομάκρυνση φωσφόρου

2.4.1 PAOs

Τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια (Polyphosphate accumulating organisms - PAOs) είναι υπεύθυνα για τη βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου. Πρόκειται για μικροοργανισμούς που έχουν ποσότητες πολυφωσφορικών αλυσίδων αποθηκευμένες στα κύτταρά τους.

Είναι ετερότροφοι χημικοοργανοτροφικοί οργανισμοί, δηλαδή χρησιμοποιούν οργανικές ενώσεις ως πηγή άνθρακα και ως δότη ηλεκτρονίων και λαμβάνουν την απαραίτητη ενέργεια από χημικές αντιδράσεις. Όσον αφορά των αποδέκτη ηλεκτρονίων, αυτοί οι μικροοργανισμοί είναι αερόβιοι και αναερόβιοι, δηλαδή οξειδώνονται έχοντας είτε το οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, είτε κάποιο άλλο αποδέκτη (πχ. νιτρικά) (Mino et al., 1998). Η εναλλαγή των αναερόβιων – αερόβιων συνθηκών δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs ως προς την ανάπτυξή τους σε σχέση με τους υπόλοιπους ετεροτροφικούς μικροοργανισμούς (Acevedo et al., 2017; Von Sperling et al., 2007).

Σε αντίθεση με τους περισσότερους μικροοργανισμούς, τα PAOs έχουν την ικανότητα να προσλαμβάνουν απλές ενώσεις άνθρακα, χωρίς την παρουσία εξωτερικού δέκτη ηλεκτρονίων (π.χ. νιτρικά ή οξυγόνο), και να τις αποθηκεύουν ενδοκυτταρικά (Xu et al., 2018b; Seviour et al., 2003). Συγκεκριμένα, προσλαμβάνουν οργανική τροφή με τη μορφή πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) υπό αναερόβιες συνθήκες και την αποθηκεύουν ως πολυυδροξυαλκανοϊκά (PHAs), δηλαδή ενώσεις αποθηκευμένου άνθρακα (Oehmen et al., 2007; Oehmen et al., 2005b; Oehmen et al., 2004; Saunders et al., 2003). Στα λύματα, η οργανική τροφή υπάρχει κυρίως με τη μορφή οξικού οξέος, το οποίο μετατρέπεται σε ακετυλο-CoA και, στη συνέχεια, σε PHA (Tarayre et al., 2016). Τα περισσότερα άλλα βακτήρια δεν μπορούν να καταναλώσουν τροφή υπό αυτές τις συνθήκες και, ως εκ τούτου, τα PAOs αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των υπολοίπων μικροοργανισμών. Η γενική άποψη είναι ότι οι PAOs είναι πιθανώς σε καλύτερη θέση να επιβιώσουν σε συστήματα με περιορισμένη τροφή και περιόδους «πείνας», λόγω της ικανότητάς τους να αποθηκεύουν τροφή ενδοκυτταρικά (Seviour et al., 2003).

Ωστόσο, υπάρχουν πολλές παράμετροι που επηρεάζουν την ικανότητα πρόσληψης φωσφόρου, όπως ο χρόνος αναερόβιας και αερόβιας ή ανοξικής φάσης, το pH, η θερμοκρασία, η σύνθεση πτητικών λιπαρών οξέων και άλλες συγκεντρώσεις ιόντων μετάλλων (Tarayre et al., 2016). Περαιτέρω ανάλυση γίνεται σε επόμενη ενότητα.

Επιπλέον, τα ΡΑΟs είναι σε θέση να υδρολύσουν τις ενδοκυτταρικές πολυφωσφορικές αλυσίδες, καθώς και εσωτερικά αποθηκευμένα γλυκογόνα, προκειμένου να εξασφαλίσουν την απαραίτητη ενέργεια για την αναερόβια πρόσληψη της οργανικής τροφής. Οι πολυφωσφορικές αλυσίδες υδρολύονται σε ορθοφωσφορικά, ενώ το γλυκογόνο μετασχηματίζεται σε ΡΗΑ και CO₂ (Oehmen et al., 2005b). Κατά την υδρόλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων, η τριφωσφορική αδενοσίνη (ΑΤΡ) κατά τη μετατροπή της σε διφωσφορική αδενοσίνη (ΑΔΡ) οδηγεί στην απελευθέρωση φωσφόρου από το κύτταρο, αυξάνοντας τη συγκέντρωση του διαλυμένου φωσφόρου στο υγρό (Zhou et al., 2009; Panswad et al., 2003). Η υδρόλυση του γλυκογόνου (γλυκόλυση) γίνεται είτε με την μέθοδο των Entner-Doudoroff (ED), είτε με τη μέθοδο των Embden, Meyerhof και Parnas (EMP), με βιβλιογραφικές αναφορές να υποστηρίζουν την εμπλοκή και των δύο μεθόδων (Tarayre et al., 2016; Acevedo et al., 2012; Hesselmann et al., 2000). Σημειώνεται ότι η παραγωγή ΑΤΡ μέσω της οδού ED είναι μικρότερη σε σύγκριση με την παράγωγή μέσω της EMP, όμως, ο καθοριστικός παράγοντας για την παραγωγή ενέργειας είναι η υδρόλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων, καθιστώντας τη διαφορά στην παραγωγή ΑΤΡ μεταξύ των δύο διαδρομών μικρή (Oehmen et al., 2010a).

Η σύνθεση των ΡΗAs προϋποθέτει την παραγωγή αναγωγικής ισχύος (NADH) (Seviour et al., 2003). Τα ΡΑΟs χρησιμοποιούν κυρίως γλυκόλυση για την παραγωγή NADH (Mino et al., 1994). Ωστόσο, όταν έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε πολυφωσφορικά, η γλυκόλυση χρησιμοποιείται για την παραγωγή του ΑΤΡ που απαιτείται για την σύνθεση των ΡΗAs. Είναι πιθανό ότι η χρήση της οδού της γλυκόλυσης για την κάλυψη των αναγκών του ΑΤΡ να δημιουργεί περίσσεια NADH, το οποίο χρησιμοποιείται για τον μετασχηματισμό του ακετυλο-CoA και του προπιονυλο-CoA σε ΡΗAs (Acevedo et al., 2012).

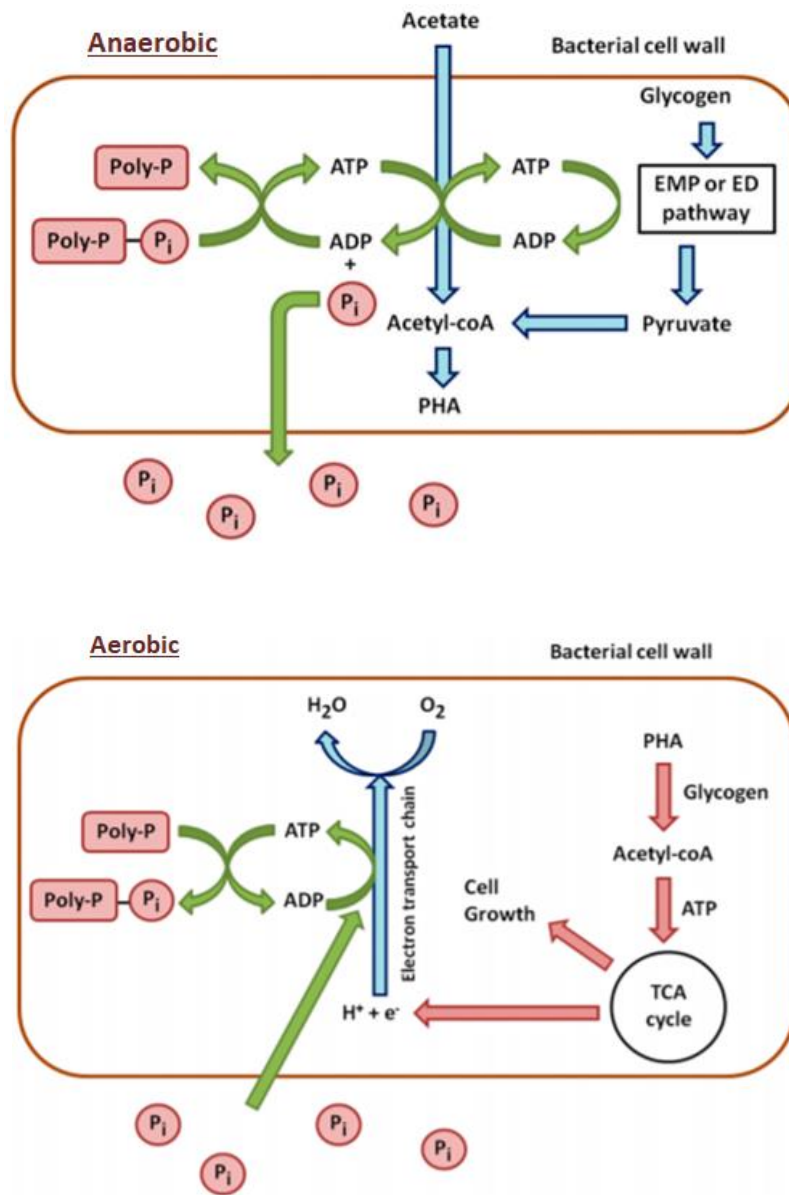
Γενικά, η γλυκόλυση θεωρείτο η πηγή της αναγωγικής ισχύος, όμως, πλέον, υπάρχουν πολλές αναφορές σχετικά με τον κύκλο του Krebs (ή κύκλο TCA) στο ρόλο της πηγής αυτής (Brdjanovic et al., 1998; Pereira et al., 1996; Comeau et al., 1986), ενώ άλλοι υποστηρίζουν ότι τόσο η γλυκόλυση, όσο και ο κύκλος του Krebs (και η οδός του γλυοξυλικού οξέος) είναι ενεργές στον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs (He et al., 2011; Schuler et al., 2003).

Οι Zhou et al. (2009) διαπίστωσαν πως σε περιπτώσεις περιορισμένου γλυκογόνου, τα βακτηρίδια ήταν σε θέση να χρησιμοποιήσουν τον κύκλο του Krebs για να παράξουν NADH, υδrolύοντας περισσότερες πολυφωσφορικές αλυσίδες για να αντισταθμίσουν τις πρόσθετες απαιτήσεις σε ATP. Η συμμετοχή του κύκλου του Krebs εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα του αποικοδομήσιμου γλυκογόνου.

Σε συνθήκες όπου το γλυκογόνο δεν είναι περιορισμένο, το μοντέλο του Mino (Mino et al., 1998; Mino et al., 1987; Mino et al., 1984) είναι γενικά διαδεδομένο, όπου ο κύκλος του Krebs δεν συμβάλλει στην παραγωγή δυναμικού ισχύος, αλλά η απαραίτητη ενέργεια για την πρόσληψη των VFAs δίνεται από την υδρόλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων και του ενδοκυτταρικός αποθηκευμένου γλυκογόνου. Το γλυκογόνο μετατρέπεται σε ακετυλο-CoA μέσω της γλυκόλυσης, παράγοντας αναγωγική ισχύ, και σε προπιονυλο-CoA μέσω της μεθόδου ηλεκτρικού-προπιονικού, καταναλώνοντας αναγωγική ισχύ. Το αποθηκευμένο γλυκογόνο φαίνεται να είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της ισορροπίας της οξειδοαναγωγής. Ωστόσο, η παρουσία CO₂ οδηγεί στο συμπέρασμα πως ο κύκλος του Krebs είναι λειτουργικός στον αναερόβιο μεταβολισμό, γεγονός που αναδεικνύουν κι άλλες έρευνες.

Αερόβια, τα PAOs είναι σε θέση να οξειδώσουν τα αποθηκευμένα PHAs και να τα χρησιμοποιήσουν ως πηγή ενέργειας και άνθρακα (He et al., 2011; Seviour et al., 2003). Γίνεται σύνθεση ακετυλο-CoA μέσω του κύκλου του Krebs, κατά τον οποίο παράγεται ενέργεια και άνθρακας για την εκτέλεση ενός εύρους διεργασιών, όπως ανάπτυξη νέου κυτταρικού υλικού, συντήρηση κυττάρου, αναπλήρωση γλυκογόνου, πρόσληψη των ορθοφωσφορικών και σχηματισμός των πολυφωσφορικών αλυσίδων (Tarayre et al., 2016; Zhou et al., 2009; Oehmen et al., 2005b). Η απομάκρυνση του φωσφόρου επιτυγχάνεται, εν

τέλει, με την αφαίρεση της περίσσειας λύσος, πλούσιας σε πολυφωσφορικά βακτηρίδια, τα οποία έχουν προσλάβει περισσότερο φώσφορο από αυτόν που έχουν απελευθερώσει (Panswad et al., 2003).



Σχήμα 2.8: (α) Αναερόβιος και (β) Αερόβιος μεταβολισμός των πολυφωσφορικών βακτηριδίων (Tarayre et al., 2016)

Το πιο γνωστό πολυφωσφορικό βακτηρίδιο σήμερα ονομάζεται *Candidatus Accumolibacter Phosphatis*, το οποίο ανήκει στη μικροβιακή κοινότητα *Betaproteobacteria* και σχετίζεται με την ομάδα *Rhodocyclus* (Oehmen et al., 2007; Hesselmann et al., 1999). Υπάρχουν πολλές αναφορές που το ανιχνεύουν τόσο σε εργαστηριακή κλίμακα, όσο και σε ΕΕΛ (Nielsen et al., 2019; Camejo et al., 2016; Wong et al., 2005; Saunders et al., 2003). Το *Candidatus Accumolibacter Phosphatis* έχει διαιρεθεί σε δύο τύπους *Accumolibacter Type I* (PAO I) και τον *Accumolibacter Type II* (PAO II) χρησιμοποιώντας το γονίδιο πολυφωσφορικής κινάσης (*prk1*) ως γενετικό δείκτη, καθένας από τους οποίους διαιρείται περαιτέρω σε επιμέρους στελέχη (Flowers et al., 2009). Συγκεκριμένα, ο τύπος PAO I διαθέτει πέντε στελέχη (IA-IE), ενώ ο τύπος PAO II επτά (IIA-IIG) (Tarayre et al., 2016; Peterson et al., 2008; He et al., 2007).

Η κύρια διαφορά των δύο τύπων είναι οι αποδέκτες ηλεκτρονίων. Ενώ έχουν και οι δύο τύποι την ικανότητα αναγωγής νιτρωδών και οξυγόνου, ο τύπος PAO II δεν μπορεί να εκτελέσει αναγωγή νιτρικών. Επιπλέον, έρευνες έχουν δείξει πως υπάρχουν φαινοτυπικές και οικολογικές διαφορές μεταξύ των μελών της γενεαλογίας του *Accumolibacter*. Ως προς τη μορφολογία, έχει παρατηρηθεί πως το PAO I έχει ραβδόμορφο σχήμα κυττάρου, ενώ το PAO II έχει μορφή κόκκου (Zeng et al., 2016a; Oehmen et al., 2010b; Carvalho et al., 2007).

Οι Acevedo et al. (2012) αναφέρουν ότι τα PAO τύπου II έχουν μεγαλύτερη ικανότητα προσαρμογής σε αλλαγές στις συνθήκες αποθήκευσης πολυφωσφορικών, πιθανώς επειδή είναι σε θέση να χρησιμοποιούν διαφορετικές μεταβολικές οδούς, ενώ ο τύπος I δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει τη γλυκολυτική οδό και τον κύκλο του Krebs τόσο αποτελεσματικά, άρα, σε συνθήκες χαμηλής συγκέντρωσης φωσφόρου ο τύπος PAO I, που δεν έχει την αντίστοιχη ευελιξία, έρχεται σε μειονεκτική θέση και σταδιακά εξαλείφεται. Γενικά, υπάρχουν πολλές αναφορές που υποστηρίζουν ότι δεν διαθέτουν όλα τα στελέχη ένζυμα για να χρησιμοποιήσουν όλες τις μεταβολικές οδούς. Για παράδειγμα, οι Martín et al. (2006) αναφέρουν ότι ο τύπος IIA περιέχει ένζυμα για την οδό EMP, αλλά όχι για την ED, ενώ ορισμένα στελέχη είναι ικανά και για τα δύο μονοπάτια (Oehmen et al., 2007). Η ύπαρξη

διαφορετικών στελεχών με διαφορετικά χαρακτηριστικά μπορεί να εξηγήσει τις αποκλίσεις στη βιβλιογραφία ως προς τις μεταβολικές οδούς και τη χρήση ή όχι του κύκλου του Krebs

Ακόμα, η ανθεκτικότητα κάθε στελέχους στις διάφορες συνθήκες ποικίλει. Σε συνθήκες περιορισμένο οξυγόνου ήταν κυρίαρχα τα στελέχη IID και IC (Camejo et al., 2016), ενώ σε συνθήκες ψηλών θερμοκρασιών το στέλεχος IIF παρουσίασε μεγάλη ανθεκτικότητα (Ong et al., 2014). Οι Slater et al. (2010) παρατήρησαν ότι το στέλεχος IA κατάφερε να κυριαρχήσει έναντι του ανταγωνιστή του, GAOs, όμως το στέλεχος IIC όχι. Επιπλέον, το στέλεχος IID επιβιώνει σε ψηλές συγκεντρώσεις νιτρώδων και χαμηλές συγκεντρώσεις οργανικών ενώσεων, ενώ το στέλεχος IIC είναι ευαίσθητο στο νιτρώδες άζωτο, αλλά σε χαμηλές συγκεντρώσεις νιτρώδων (<8 mg / L), κυριαρχεί στην ανοξική πρόσληψη φωσφόρου (Zeng et al., 2017; Zeng et al., 2016b).

2.4.2 DPAOs

Τα απονιτροποιητικά πολυφωσφορικά βακτηρίδια (Denitrifying polyphosphate accumulating organisms - DPAOs) είναι ουσιαστικά πολυφωσφορικά βακτηρίδια που χρησιμοποιούν σαν δέκτη ηλεκτρονίων τα νιτρικά ή τα νιτρώδη και, έτσι, μπορούν ταυτόχρονα να απομακρύνουν φώσφορο και να εκτελούν απονιτροποίηση (Carvalho et al., 2007; Mino et al., 1995). Προφανώς είναι απαραίτητη η εναλλαγή αναερόβιων – ανοξικών συνθηκών για να το επιτύχουν (Oehmen et al., 2007). Η ύπαρξή τους έχει αναφερθεί από τα τέλη της δεκαετίας του 1980 (Gerber et al. 1987; Comeau et al., 1987).

Γενικά, τα PAOs ταξινομούνται σε τρεις ομάδες ανάλογα με τον δέκτη ηλεκτρονίων που είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν, δηλαδή την πρώτη ομάδα που χρησιμοποιεί μόνο το οξυγόνο ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, τη δεύτερη που χρησιμοποιεί τόσο το οξυγόνο, όσο και τα νιτρώδη ως δέκτες ηλεκτρονίων και τη τρίτη που χρησιμοποιεί το οξυγόνο, τα νιτρικά και τα νιτρώδη. Οι δύο τελευταίες ομάδες αποτελούν τα DPAOs (Hu et al., 2003).

Για να είναι ευνοϊκή η ανάπτυξή τους, πρέπει να υπερισχύσουν έναντι των κοινών ετεροτροφικών απονιτροποιητικών βακτηρίων, καθώς τα τελευταία παρουσιάζουν μεγαλύτερο ρυθμό απονιτροποίησης. Φάνηκε ότι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει την εμφάνιση των DPAOs είναι το φορτίο νιτρικών στον ανοξικό αντιδραστήρα, το οποίο πρέπει να είναι αρκετά μεγάλο ή να υπερβαίνει το δυναμικό απονιτροποίησης των συνηθισμένων ετεροτροφικών οργανισμών (Hu et al., 2002).

Το σύστημα που χρησιμοποιεί DPAOs μπορεί, όχι μόνο να μειώσει την απαίτηση οξυγόνου για οξείδωση των PHAs στην αερόβια ζώνη, αλλά και να εξοικονομήσει τη ζήτηση COD (Zielińska et al., 2016; Lee et al., 2014). Καθώς χρησιμοποιείται η ίδια πηγή άνθρακα για να γίνει απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου, ο ανταγωνισμός για το COD μεταξύ βακτηρίων που εκτελούν μεμονωμένα τις απομακρύνσεις αυτές μπορεί να μειωθεί (Shoji et al., 2003), ενώ σύμφωνα με μια έρευνα των Brdjanovic et al. (1998), τα DPAO μπορούσαν να απομακρύνουν 4-5 g NO₃-N ανά g P χωρίς χρήση COD. Η εξοικονόμηση στον αερισμό και τους ανθρακικούς πόρους συνεπάγεται μείωση του λειτουργικού κόστους (Oehmen et al., 2007), ενώ, όταν αποδέκτης ηλεκτρονίων είναι το νιτρώδες άζωτο, εκτός από εξοικονόμηση αερισμού και άνθρακα, εξαλείφεται και η αναστολή των μικροοργανισμών λόγω των νιτρωδών (Zeng et al., 2016a).

Αν και η απονιτροποιητική ικανότητα των DPAOs μοιάζει με αυτοτροφική απονιτροποίηση επειδή δεν απαιτείται COD λυμάτων, στην πραγματικότητα πρόκειται για ετεροτροφική ενδογενή απονιτροποίηση. Δεδομένου ότι τα PHAs που έχουν δημιουργηθεί αναερόβια χρησιμοποιούνται ως εσωτερική πηγή άνθρακα, τα DPAOs δεν χρειάζονται εξωτερική πηγή άνθρακα για την απονιτροποίηση (Lee et al., 2014).

Στην ανάλυση του ειδικού ρυθμού απονιτροποίησης των DPAOs, οι Lee et al. (2014) έδειξε ότι το NO₃-N μπορεί να απονιτροποιηθεί με ρυθμό που δεν διαφέρει ουσιαστικά από αυτόν ενός συνηθισμένου απονιτροποιητή, ενώ δεν απαιτείται πρόσθετη κατανάλωση οργανικού άνθρακα λόγω των PHAs που είχε αποθηκευτεί μέσα στο κύτταρο υπό αναερόβιες συνθήκες. Αντίθετα, η ανοξική πρόσληψη φωσφόρου φαίνεται να γίνεται με βραδύτερο ρυθμό από ότι σε αερόβιες συνθήκες (Hu et al., 2002), αν και οι Lee et al. (2014)

υπολόγισαν παρόμοιους ρυθμούς πρόσληψης και απελευθέρωσης φωσφόρου μεταξύ των PAOs και των DPAOs. Μια μέση απόδοση απομάκρυνσης φωσφόρου σε ανοξικές συνθήκες είναι 72% (Guo et al., 2018).

Ως προς τον αποδέκτη, οι Jabari et al. (2014) παρατήρησαν ότι ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου ήταν σημαντικά υψηλότερος όταν αποδέκτης ηλεκτρονίων ήταν το νιτρώδες άζωτο, συγκριτικά με το νιτρικό άζωτο. Αντίθετα, οι Zhou et al. (2010a) ανέφεραν ισχυρότερη απομάκρυνση φωσφόρου όταν τα νιτρικά λειτουργούσαν ως δέκτης ηλεκτρονίων, αντί για τα νιτρώδη, αν και επισημαίνουν ότι παίζει ρόλο η αρχική ποσότητα των δεκτών ηλεκτρονίων.

Επιπλέον, η απομάκρυνση φωσφόρου μέσω DPAOs θεωρείται μια από τις πιο υποσχόμενες τεχνολογίες βιολογικής επεξεργασίας, καθώς εξοικονομεί 50% στη ζήτηση άνθρακα, 30% και μειώνει την παραγωγή λάσπης κατά 50% στη ζήτηση οξυγόνου σε σύγκριση με την συμβατική μέθοδο βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου (Guo et al., 2018; Mandel et al., 2019). Από την άλλη, παράγεται χαμηλότερη ενέργεια σε σχέση με τον αερόβιο μεταβολισμό, οπότε έχουμε μικρότερο ρυθμό απομάκρυνσης. Η μέγιστη ικανότητα αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου από τα DPAOs είναι περίπου το 60% αυτής των PAOs (Lee et al., 2014). Επίσης, η ανάπτυξή τους σε σχέση με τα PAOs είναι 70% μικρότερη (Hu et al., 2002).

Η δομή του πληθυσμού των στελεχών των *Accumulibacter* εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν, ενώ οι ικανότητα για απονιτροποίηση σχετίζεται με συγκεκριμένα στελέχη (Peterson et al., 2008). Αναφορές υποστηρίζουν ότι τα DPAOs, που είναι σε θέση να μειώσουν τα νιτρικά, συσχετίζονται με το *Accumulibacter* τύπου I, ενώ τα απλά PAOs, που δεν είναι σε θέση να μειώσουν τα νιτρικά, αλλά έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν τα νιτρώδη, έχουν συσχετιστεί με το *Accumulibacter* τύπου II (Oehmen et al., 2010a; Flowers et al., 2009; Carvalho et al., 2007).

2.4.3 GAOs

Ένας μεγάλος ανταγωνιστής των πολυφωσφορικών βακτηριδίων είναι τα μη πολυφωσφορικά βακτήρια (Glycogen Accumulating Organisms - GAOs). Ο όρος GAOs προτάθηκε από τους Mino et al. (1995). Αυτή η ομάδα βακτηριδίων έχει την ίδια ικανότητα ενδοκυτταρικής αποθήκευσης απλών ενώσεων άνθρακα χωρίς την παρουσία εξωτερικού δέκτη ηλεκτρονίων (Oehmen et al., 2007). Η παρουσία τους στις ΕΕΛ και σε εργαστηριακούς αντιδραστήρες έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές αναφορές (Nielsen et al., 2019; Wong et al., 2005; Saunders et al., 2003).

Η διαφορά τους με τα PAOs είναι πως δεν αποθηκεύουν πολυφωσφορικές αλυσίδες, οπότε και δεν συνεισφέρουν στη βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου. Αντιθέτως, δυσχεράνουν την απομάκρυνση αυτή, καθώς η παρουσία τους οδηγεί σε αύξηση των συνολικών απαιτήσεων άνθρακα, αφού καταναλώνουν και αυτοί VFAs, παραγωγή περισσότερης λάσπης και, τελικά, αύξηση του συνολικού κόστους της εγκατάστασης (Oehmen et al., 2010a; Oehmen et al., 2005b; Zeng et al., 2003a).

Πραγματοποιούν μεταβολισμό πολύ παρόμοιο με αυτόν των PAOs με τη μόνη εμφανή διαφορά να είναι ότι οι χρησιμοποιούν το εσωτερικά αποθηκευμένο γλυκογόνο ως τη μόνη πηγή ενέργειας, χωρίς να προσλαμβάνουν ή να απελευθερώνουν φώσφορο, αποτελώντας ένα ισχυρό ανταγωνιστή των PAOs (Zeng et al., 2003b; Mino et al., 1998). Μοναδική πηγή ενέργειας για την πρόσληψη VFAs είναι η υδρόλυση του γλυκογόνου, η οποία, όπως και στα PAOs, γίνεται με την μέθοδο των Entner-Doudoroff ή με τη μέθοδο των Embden, Meyerhof και Parnas (Lemos et al., 2007; Oehmen et al., 2006b; Zeng et al., 2003a), αν και υπάρχουν αναφορές που υποστηρίζουν ότι τα GAOs δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν την οδό ED (Filipe et al., 2001a). Η μετατροπή των VFAs σε PHAs ακολουθεί μια πορεία αντίστοιχη με των PAOs, δηλαδή μέσω της γλυκόλυσης γίνεται η μετατροπή του γλυκογόνου σε ακετυλο-CoA, παράγοντας αναγωγική ισχύ, και σε προπιονυλο-CoA μέσω της μεθόδου ηλεκτρικού-προπιονικού, καταναλώνοντας αναγωγική ισχύ. Η αναγωγική ισχύς παράγεται και εν μέρει μέσω του κύκλου του Krebs (Acevedo et al., 2015; Oehmen et al., 2010b).

Υπό αερόβιες συνθήκες, το γλυκογόνο αναγεννιέται από τα PHAs, τα οποία οξειδώνονται για να χρησιμοποιηθούν ως πηγή ενέργειας και άνθρακα και να γίνουν οι απαραίτητες διεργασίες ανάπτυξης και συντήρησης του κυττάρου, καθώς και αναπλήρωση του γλυκογόνου. Η ενέργεια που απαιτείται για τη συντήρηση τόσο σε αναερόβιες, όσο και σε αερόβιες συνθήκες από τα GAOs είναι παρόμοια με εκείνη των PAOs (Zeng et al., 2003a).

Λόγω του ότι παράγουν γλυκογόνο στην αερόβια ζώνη και λαμβάνουν την ενέργειά τους από το γλυκογόνο, είναι γνωστοί ως οργανισμοί συσώρευσης γλυκογόνου. Χρησιμοποιούν γλυκογόνο σε πολύ υψηλότερες ποσότητες από τα PAOs, ενώ ο σχετικός ρυθμός πρόσληψης της τροφής μαζί με την συνολική ποσότητα παραγόμενου PHA δίνει μια ένδειξη του συνδυασμένου πληθυσμού των PAOs και GAOs (Saunders et al., 2003). Επιπλέον, λόγω της αποκλειστικής χρήσης του γλυκογόνου για την παραγωγή ενέργειας, σε συνθήκες περιορισμένου φωσφόρου ενδέχεται να αποκτήσουν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των PAOs, καθώς τα PAOs χρειάζονται και τις πολυφωσφορικές αλυσίδες για την παραγωγή ενέργειας εκτός από το γλυκογόνο (Dai et al., 2007; Mino et al., 1998) .

Μερικά GAOs που έχουν ανιχνευθεί και σε εργαστηριακή κλίμακα και σε πλήρη κλίμακα είναι το *Candidatus Competibacter Phosphatis*, το οποίο ανήκει στη μικροβιακή κοινότητα *Gamma*proteobacteria και είναι ραβδόμορφο, και τα *Sphingomonas* και *Defluviicoccus* Vanus, τα οποία ανήκουν στη μικροβιακή κοινότητα *Alphaproteobacteria* (Meyer et al., 2006; Beer et al., 2006; Kong et al., 2002).

Αρκετές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στους παράγοντες που ευνοούν την ανάπτυξη των PAOs έναντι των GAOs για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας των συστημάτων απομάκρυνσης φωσφόρου. Μερικοί από αυτούς τους παράγοντες είναι το pH, η θερμοκρασία, ο χρόνος παραμονής της λάσπης και η συγκέντρωση οξυγόνου (Lopez-Vazquez et al., 2008a). Επιπλέον, έρευνες έχουν δείξει πως αν είναι το προπιονικό ως πηγή VFAs, τα PAOs αποκτούν πλεονέκτημα έναντι των GAOs ως προς την ικανότητά τους να το μεταβολίσουν (Oehmen et al., 2006a). Περαιτέρω ανάλυση των παραμέτρων που επηρεάζουν τον ανταγωνισμό μεταξύ PAOs και GAOs γίνεται σε ακόλουθη ενότητα (βλ. 2.5).

2.4.4 DGAOs

Αντίστοιχα με τα DPAOs, υπάρχουν DGAOs που είναι σε θέση να χρησιμοποιούν τα νιτρικά σαν δέκτη ηλεκτρονίων, δηλαδή, αφού προσλάβουν VFA υπό αναερόβιες συνθήκες και τα αποθηκεύσουν ενδοκυτταρικά ως PHAs, παράγοντας ενέργεια μέσω της γλυκόλυσης, στη συνέχεια αναπτύσσονται και αναπληρώνουν το γλυκογόνο υπό ανοξικές συνθήκες με τα PHAs ως πηγή άνθρακα και ενέργειας (Carvalho et al., 2007; Zeng et al., 2003b).

Η παραγωγή γλυκογόνου έχει προτεραιότητα σε σχέση με την ανάπτυξη της βιομάζας. Οι Zeng et al. (2003b) αναφέρουν πως, σε σύγκριση με τα GAOs, τα DGAOs καταναλώνουν πολύ περισσότερα PHAs για παραγωγή ενέργειας (27% έναντι 8%), με αποτέλεσμα λιγότερη διαθεσιμότητα PHAs για αναπλήρωση γλυκογόνου και ανάπτυξη βιομάζας. Άρα, τελικά, τα DGAOs έχουν πολύ χαμηλότερη απόδοση βιομάζας από τα GAOs και, επομένως, λιγότερη παραγωγή λάσπης. Σημειώνεται ότι αναφέρουν επίσης πως το κύριο προϊόν της απονιτροποίησης, αντί του N_2 , ήταν το N_2O , το οποίο είναι πολύ ισχυρό αέριο του θερμοκηπίου, ενώ οι Ribera-Guardia et al. (2016) έδειξαν πως οι DPAOs είχαν καλύτερη απονιτροποιητική ικανότητα και λιγότερη παραγωγή N_2O .

Οι Oehmen et al. (2010a) αναφέρουν πως τα στελέχη I, IV και V του Candidatus Competibacter Phosphatis και το Defluviicoccus vanus I είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν τα νιτρικά ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, ενώ το στέλεχος VI του Candidatus Competibacter Phosphatis μπορεί να χρησιμοποιήσει και τα νιτρικά και τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Όταν, όμως, μοναδικός δότης ηλεκτρονίων είναι το προπιονικό και μοναδικός δέκτης ηλεκτρονίων τα νιτρώδη, τα DGAOs δεν μπορούν να επιβιώσουν.

2.5 Παράγοντες αναχαίτισης της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου

2.5.1 Γενικά

Σε μια εγκατάσταση επεξεργασίας λυμάτων υπάρχουν διάφορες μικροβιακές ομάδες, οι οποίες συνυπάρχουν, αλληλεπιδρούν, συνεργάζονται ή ανταγωνίζονται μεταξύ τους. Κάθε ομάδα μικροοργανισμών, ακόμα και στελέχη του ίδιου γένους μιας μικροβιακής ομάδας, αντιδρά διαφορετικά σε διαφορετικές συνθήκες, ενώ χαρακτηρίζεται από τις δικές της βέλτιστες συνθήκες, οι οποίες την ευνοούν για να αναπτυχθεί και να εκτελέσει διάφορες βιολογικές διεργασίες. Στην παρούσα διπλωματική, λόγω του ότι μελετάται η απομάκρυνση φωσφόρου, οι μικροβιολογικοί πληθυσμοί που εξετάζονται είναι τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια (PAOs) και οι ανταγωνιστές τους, τα μη πολυφωσφορικά βακτήρια (GAOs). Προφανώς για να είναι επιτυχημένη η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου, είναι επιθυμητό τα PAOs να κυριαρχούν των GAOs, αφού, όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα GAOs καταναλώνουν VFAs χωρίς να απομακρύνουν φώσφορου, εμποδίζοντας την ανάπτυξη των PAOs και οδηγώντας σε μειωμένη απόδοση του συστήματος (Acevedo et al., 2017; Acevedo et al., 2012; Oehmen et al., 2007; Oehmen et al., 2005b). Υπάρχουν διάφορες λειτουργικές και περιβαλλοντικές συνθήκες που επηρεάζουν τον ανταγωνισμό μεταξύ τους των PAOs και των GAOs και οι οποίες πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για να είναι σωστός ο σχεδιασμός μιας εγκατάστασης. Το κλειδί για τη διατήρηση υψηλής απόδοσής της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου σε ένα σύστημα είναι η βελτιστοποίηση της λειτουργίας και της διαχείρισης του, κατανοώντας τους παράγοντες που αναστέλλουν τη σταθερότητα και την αξιοπιστία του (Zheng et al., 2014). Στη συνέχεια, αναλύονται οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν τα βακτήρια που προαναφέρθηκαν, καθώς και τον μεταξύ τους ανταγωνισμό.

2.5.2 pH

Η ενεργός οξύτητα ή pH είναι ένας τρόπος έκφρασης της συγκέντρωσης των ιόντων υδρογόνου σε ένα υδατικό διάλυμα και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της οξύτητας ενός διαλύματος. Οι τιμές του pH κυμαίνονται από 0 έως 14, με τα διαλύματα να χαρακτηρίζονται όξινα όταν το pH είναι μικρότερο του 7, ουδέτερα όταν το pH είναι ίσο με 7 και αλκαλικά όταν το pH είναι μεγαλύτερο του 7.

Το pH είναι μια λειτουργική παράμετρος που έχει αποδειχθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου, κυρίως μέσω της επιρροής της στα PAOs και τα GAOs, καθώς μπορεί να αποτελέσει εργαλείο ελέγχου για τον ανταγωνισμό μεταξύ των δύο βακτηριακών ομάδων (Jeon et al., 2001).

Οι Oehmen et al. (2005a) αναφέρουν βελτίωση της απόδοσης απομάκρυνσης του φωσφόρου όταν το pH του συστήματος αυξήθηκε από 7 σε 8. Η αύξηση του pH οδήγησε σε αύξηση του πληθυσμού των PAOs έναντι των GAOs, γεγονός που αποδείχθηκε τόσο με χημικές όσο και με μικροβιολογικές μεθόδους. Επιπλέον, φάνηκε ότι το pH επηρέασε το ρυθμό πρόσληψης της οργανικής τροφής, και συγκεκριμένα του προπιονικού, καθώς ο ρυθμός ήταν ταχύτερος σε υψηλό pH (7.5 - 8.0) από ότι σε χαμηλό pH (6.5 - 7.0). Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης δείχνουν ότι ένα υψηλό pH συνεπάγεται ένα αυξημένο επίπεδο απομάκρυνσης φωσφόρου, παρέχοντας στα PAOs ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των ανταγωνιστών τους, δίνοντας ως λύση στις ΕΕΛ που δεν πετυχαίνουν υψηλή ή σταθερή απομάκρυνση φωσφόρου την αύξηση του pH του συστήματός τους. Αντίστοιχα, η απομάκρυνση του φωσφόρου παρατηρήθηκε να μειώνεται με την αλλαγή του pH από 7.0 σε 6.5, ενώ ταυτόχρονα σημειώνεται μια σαφής μεταβολή στη δομή της μικροβιακής κοινότητας (Zhang et al., 2005).

Από την άλλη, οι Filipe et al. (2001d) έχουν αποδείξει ότι όταν το pH ανήκει στο εύρος 6.5 - 8.0, δεν επηρεάζει την πρόσληψη οξικού, την αποικοδόμηση του γλυκογόνου και το ρυθμό συσσώρευσης PHAs των PAOs, υποδεικνύοντας ότι οι υψηλότερες ενεργειακές απαιτήσεις

για την πρόσληψη οξικού οξέος δεν επηρεάζουν αρνητικά την ικανότητά των μικροοργανισμών να μεταβολίζουν το VFAs.

Επίσης, σε μια μελέτη που έγινε από τους Zhang et al. (2007), η οποία αφορούσε την μακροχρόνια επίδραση του pH στα PAOs και στα GAOs με πηγή άνθρακα το προπιονικό και το οξικό οξύ, παρατηρήθηκε ότι όταν το pH αυξήθηκε από το 6.4 στο 8.0, ο αναερόβιος ρυθμός πρόσληψης του προπιονικού από τα PAOs αυξήθηκε, ενώ ο αντίστοιχος ρυθμός των GAOs μειώθηκε. Για τις τιμές του pH ίσες με 6.70 και 7.51 τα PAOs και τα GAOs παρουσίασαν τους ίδιους ρυθμούς πρόσληψης οξικού και προπιονικού οξέος, αντίστοιχα. Ο ρυθμός πρόσληψης του οξικού οξέος από τα PAOs ήταν μεγαλύτερος από αυτόν των GAOs όταν το pH ήταν μεγαλύτερο του 6.70 και ο ρυθμός πρόσληψης του προπιονικού οξέος από τα PAOs ήταν υψηλότερος από εκείνον των GAOs για pH μεγαλύτερο του 7.51, το οποίο έδειξε ότι αυτές οι συνθήκες ωφελούν τα PAOs. Φαίνεται ότι η σύνθεση των PHAs δεν επηρεάστηκε από τις μεταβολές του pH ούτε στα PAOs ούτε και στα GAOs. Αναφέρεται, ακόμη, ότι μακροχρόνια βελτιώθηκε σημαντικά η αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης του φωσφόρου, επιτυγχάνοντας 100% απομάκρυνση όταν το pH ήταν ίσο με 8.0, ενώ το συνιστώμενο εύρος για τη βέλτιστη απόδοση του συστήματος είναι ίσο με 7.6 - 8.0.

Οι Filipe et al. (2001a) ανέπτυξαν ένα μεταβολικό μοντέλο για τη στοιχειομετρία της πρόσληψης οξικού από τα GAOs. Επισημαίνουν ότι ο ρυθμός πρόσληψης επηρεάστηκε έντονα από το pH, καθώς μειώθηκε με την αύξησή του, ενώ σε χαμηλό pH είναι σε θέση να ανταγωνίζονται αποτελεσματικά τα PAOs. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα, το γλυκογόνο αποτελεί πηγή ενέργειας για τα GAOs. Στη μελέτη αυτή παρατηρήθηκε ότι η ποσότητα του γλυκογόνου που καταναλώνεται αυξήθηκε με το αυξανόμενο pH, υποδεικνύοντας αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις για την πρόσληψη οξικού οξέος, ενώ σε χαμηλό pH, η κατανάλωση γλυκογόνου ελαχιστοποιείται, υποδεικνύοντας ότι τα GAOs είναι πιο αποτελεσματικά όταν μειωθεί το pH της αναερόβιας φάσης (στο ελάχιστο των 6.5).

Στη μελέτη των Serralta et al. (2006) χρησιμοποιήθηκε ένας αντιδραστήρας SBR αναερόβιας – αερόβιας αλληλουχίας σε διαφορετικές συνθήκες λειτουργίας. Παρατηρήθηκε μια μικρή

διακύμανση στην τιμή του pH κατά την αναερόβια φάση, ενώ αυξήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της αερόβιας φάσης, λόγω της πρόσληψης φωσφόρου και διοξειδίου του άνθρακα. Όταν το pH ήταν υψηλότερο από 8.2 - 8.25, ο ρυθμός πρόσληψης του φωσφόρου μειώθηκε.

Σε μια αντίστοιχη μελέτη, οι Serralta et al. (2004) μελέτησαν τις διακυμάνσεις του pH που παρατηρήθηκαν σε έναν αντιδραστήρα SBR αναερόβιας - αερόβιας αλληλουχίας. Παρατήρησαν ότι το pH μειώνεται ελαφρώς κατά τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης λόγω της απελευθέρωσης φωσφόρου, ενώ αυξάνεται σημαντικά στην αερόβια φάση, όπου γίνεται έκκλιση CO_2 και πρόσληψη φωσφόρου και καταναλώνονται δύο moles πρωτονίων για κάθε mole φωσφόρου. Σημειώνεται ότι μετά την πλήρη απομάκρυνση του φωσφόρου, το pH συνήθως μειώνεται λόγω της μείωσης της έκκλισης του διοξειδίου του άνθρακα (απαιτείται λιγότερο οξυγόνο) και λόγω της νιτροποίησης.

Οι Jeon et al. (2001) ερεύνησαν την επίδραση του pH σε ένα SBR με αναερόβια – αερόβια αλληλουχία και διαπίστωσαν ότι όταν το pH της αναερόβιας φάσης ήταν ίσο με 7.0, οι GAOs κυριάρχησαν στην καλλιέργεια, με αποτέλεσμα την αποτυχία της απομάκρυνσης του φωσφόρου. Χωρίς ρύθμιση του pH κατά τη διάρκεια της αναερόβιας φάσης, το pH αυξήθηκε στο 8.4 ως αποτέλεσμα της απονιτροποίησης και της πρόσληψης οξικού. Σε αυτή τη ψηλή τιμή pH, επιτεύχθηκε σχεδόν πλήρης απομάκρυνση φωσφόρου. Επεξηγούν ότι αυτό συνέβη γιατί σε σχετικά υψηλό pH, η πρόσληψη οξικού απαιτεί επιπλέον ATP (όχι NADH) σε σύγκριση με τις συνθήκες χαμηλού pH. Ως εκ τούτου, οι PAOs ήταν ικανοί να παράγουν περισσότερο ATP μέσω της αποικοδόμησης πολυφωσφορικών και είχαν ένα πλεονέκτημα στην πρόσληψη οξικού έναντι των GAOs, και, άρα, ο κυρίαρχος πληθυσμός στο σύστημα ήταν τα PAOs. Αντίστοιχα, οι Oehmen et al. (2007) αναφέρουν ότι, υπό την προϋπόθεση ότι το εσωτερικό pH του κυττάρου διατηρείται σταθερό, υπάρχει αυξημένη διαβάθμιση pH και αντίστοιχη αύξηση της διαφοράς ηλεκτρικού δυναμικού σε όλη την κυτταρική μεμβράνη σε υψηλό pH περιβάλλοντος. Επομένως, απαιτείται περισσότερη ενέργεια για τη μεταφορά οξικού οξέος μέσω της μεμβράνης όταν το εξωτερικό pH είναι υψηλό, η οποία παράγεται μέσω της αυξημένης αποικοδόμησης των πολυφωσφορικών.

Αερόβια, σε χαμηλό pH, παρατηρήθηκε αναστολή της πρόσληψης φωσφόρου, της ανάπτυξης της βιομάζας και της αποικοδόμησης των PHA για τα PAOs, χωρίς σημαντική επίδραση στα GAOs, υποδηλώνοντας ότι αν το pH είναι χαμηλό, η ανάπτυξη των PAOs θα αναστέλλεται, ενώ η ανάπτυξη των GAOs θα επηρεαστεί μόνο ήπια (Filipe et al., 2001b).

Βραχυπρόθεσμα, ο ρυθμός πρόσληψης οξικών των GAOs μειώνεται με αυξανόμενο pH και συνοδεύεται από αύξηση στην αναερόβια κατανάλωση γλυκογόνου και συσσώρευση PHV (Filipe et al., 2001a). Άρα, το ψηλότερο pH, αφενός, οδηγεί σε μεγαλύτερη ζήτηση ενέργειας και, αφετέρου, δυσχεραίνει την ικανότητα των GAOs να προσλαμβάνουν οξικό. Αυτό, πιθανότατα, οφείλεται στο γεγονός ότι τα PAOs έχουν τα πολυφωσφορικά ως επιπλέον πηγή ενέργειας σε σύγκριση με τα GAOs.

Αναερόβια, οι Filipe et al. (2001c) υποστήριξαν ότι, όταν το pH είναι μικρότερο του 7.25, τα GAOs είναι σε θέση να καταναλώσουν γρηγορότερα τα VFA από τα PAOs, ενώ για τιμές πάνω από 7.5, τα PAOs παίρνουν πλεονέκτημα. Η αποτελεσματικότητα ανάπτυξης των δύο οργανισμών είναι παρόμοια. Όταν το συνολικό pH του συστήματος ήταν χαμηλό, παρατηρήθηκε μειωμένη απομάκρυνση φωσφορικών, ενώ όταν αυξήθηκε στο 7.5 η απομάκρυνση βελτιώθηκε, αλλά ήταν ακόμη ελλιπής. Η ολική απομάκρυνση επιτεύχθηκε μόνο όταν το pH του συστήματος δεν αφέθηκε ποτέ να πέσει κάτω από 7.25. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο έλεγχος του pH είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την ελαχιστοποίηση της συσσώρευσης GAOs και την αύξηση της αξιοπιστίας των συστημάτων απομάκρυνσης της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου.

Τέλος, το pH επηρεάζει, μεταξύ άλλων, και την μορφή που εμφανίζεται η αμμωνία και τα νιτρώδη στα λύματα, καθώς για ψηλότερα pH η κυρίαρχη μορφή είναι η ελεύθερη αμμωνία (FA), ενώ για χαμηλότερα είναι το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (FNA). Και τα δύο είναι τοξικά για τους μικροοργανισμούς. Περαιτέρω ανάλυση ακολουθεί σε επόμενη παράγραφο.

2.5.3 Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία έχει, επίσης, θεωρηθεί σημαντικός παράγοντας στον ανταγωνισμό των PAOs και των GAOs. Ο ρόλος της θερμοκρασίας σε ένα σύστημα είναι πολύ σημαντικός. Οι τιμές της μπορούν να επηρεάσουν άμεσα τη μικροβιακή κοινότητα του συστήματος, επιδρώντας στην ανάπτυξη και στην επιβίωση των μικροοργανισμών. Σε μια ΕΕΛ η θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 10 °C και 30 °C (Lopez-Vazquez et al., 2008b).

Η βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου δεν είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε θερμοκρασιακές μεταβολές εάν η ηλικία της ενεργού ιλύος δεν ξεπερνά τον μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηριδίων. Προφανώς, η μείωση της θερμοκρασίας συνεπάγεται αρνητική επίδραση στους μέγιστους ρυθμούς ανάπτυξης των PAOs και στους μέγιστους ρυθμούς έκλυσης και απομάκρυνσης φωσφόρου (Μαμάης Δ., 2020).

Εκτός αυτού, η θερμοκρασία επιδρά στον ανταγωνισμό μεταξύ PAOs και GAOs. Γενικά, θεωρείται ότι τα PAOs είναι ψυχροφιλικά βακτήρια, ενώ τα GAOs θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως μεσοφιλικά, άρα οι χαμηλές θερμοκρασίες τείνουν να βελτιώσουν την απόδοση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου. Αυτό εξηγεί γιατί τα GAOs πολλαπλασιάζονται πολύ σε τροπικές περιοχές ή στην επεξεργασία βιομηχανικών λυμάτων με υψηλή θερμοκρασία (Zheng et al., 2014).

Υπάρχουν διάφορες μελέτες που το υποστηρίζουν αυτό. Οι περισσότερες μελέτες συμφωνούν ότι τα PAOs έχουν σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι των GAOs σε χαμηλές και μέτριες θερμοκρασίες (κάτω από 20°C), ενώ οι υψηλότερες θερμοκρασίες είναι πιο ευεργετικές για τα GAOs. Για παράδειγμα, οι Bassin et al. (2012) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα απομάκρυνσης φωσφόρου σε δύο SBR για θερμοκρασίες 20 °C και 30 °C, διαπιστώνοντας μεγαλύτερη απόδοση στη χαμηλότερη θερμοκρασία, αφού στους 20 °C η απόδοση επιτεύχθηκε 90% απομάκρυνση και στους 30 °C η απομάκρυνση ήταν 60%, ενώ οι Erdal et al. (2003) σημειώνουν υψηλότερη ικανότητα απομάκρυνσης φωσφόρου και αντίστοιχη μείωση των μετασχηματισμών γλυκογόνου από βιομάζα εγκλιματισμένη στους 5 °C σε σύγκριση με τους 20 °C, καταλήγοντας ότι η χαμηλή θερμοκρασία ευνόησε την

ανάπτυξη των PAOs έναντι των GAOs. Επίσης, οι Tian et al. (2013) αναφέρουν παρεμπόδιση της αποικοδόμησης του γλυκογόνου από τα GAOs σε θερμοκρασία ίση με 10 °C, οδηγώντας σε αύξηση της ανάπτυξης των PAOs.

Από την άλλη, οι Zeng et al. (2019) εκτέλεσαν μελέτη για την επίδραση της θερμοκρασίας στην αναερόβια απελευθέρωση φωσφόρου, όπου η θερμοκρασία κυμαινόταν από 5 ως 35 °C και προέκυψε ότι ο ενδοκυτταρικός βιοχημικός μεταβολισμός και οι διαδικασίες της υδρόλυσης και της προσρόφησης ήταν σχετικά ανεξάρτητες.

Ακόμη, διερευνήθηκαν οι βραχυπρόθεσμες επιρροές της θερμοκρασίας στον αερόβιο μεταβολισμό των GAOs για θερμοκρασία από 10 °C έως 40 °C (Lopez-Vazquez et al., 2008b). Όταν η θερμοκρασία κυμαινόταν στους 10 – 30 °C τα GAOs δεν παρουσίασαν ευαισθησία στις μεταβολές, ενώ επηρεάστηκαν στους 35 – 40 °C, παρουσιάζοντας μείωση στις αερόβιες κινητικές διεργασίες. Η βέλτιστη θερμοκρασία τόσο για τον αερόβιο, όσο και για τον αναερόβιο μεταβολισμό βρέθηκε κοντά στους 30 °C. Συγκριτικά με τα PAOs, η εξάρτηση των κινητικών διεργασιών που εμπλέκονται στον αερόβιο μεταβολισμό στις θερμοκρασίες 10 – 30 °C ήταν μέτρια. Καθώς στις περισσότερες ΕΕΛ οι θερμοκρασίες κυμαίνονται σε αυτό το εύρος, οι Lopez-Vazquez et al. (2008b) καταλήγουν πως τα GAOs δεν έχουν αερόβια μεταβολικά πλεονεκτήματα έναντι των PAOs και ότι τα ανταγωνιστικά πλεονεκτήματα οφείλονται σε αναερόβιες διαδικασίες.

Αντίστοιχα, σημειώνεται ότι η αναερόβια στοιχειομετρία των GAOs δεν ήταν ευαίσθητη στις αλλαγές θερμοκρασίας από 15 έως 35 °C (Lopez-Vazquez et al., 2009a). Η μετατροπή του γλυκογόνου φάνηκε να είναι η περιοριστική μεταβολική διαδικασία των GAOs σε χαμηλή θερμοκρασία ίση με 10 °C. Αυτό υποδηλώνει ότι η λειτουργία των αντιδραστήρων βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου σε χαμηλή θερμοκρασία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως στρατηγική για την καταστολή της ανάπτυξης των GAOs. Λόγω των τεράστιων αυξήσεων των απαιτήσεων αερόβιας συντήρησης και της λιγότερο αποδοτικής παραγωγής ενέργειας λόγω οξειδωτικής φωσφορλίωσης, η καθαρή αερόβια αύξηση των GAOs ήταν περιορισμένη σε υψηλές θερμοκρασίες (30 - 40°C). Όσον αφορά τον

ανταγωνισμό PAOs - GAOs, τα GAOs δεν μπόρεσαν να ανταγωνιστούν τα PAOs κάτω από 20°C λόγω της χαμηλότερης πρόσληψης οξικού και βιομάζας,

Γενικά, η θερμοκρασία επηρεάζει τη σταθερότητα της βιολογικής απομάκρυνση φωσφόρου, παίζοντας ρόλο στον καθορισμό του αποτελέσματος του ανταγωνισμού μεταξύ GAOs και PAOs. Λόγου χάρη, στην μελέτη των Whang et al. (2002), ενώ στους 20°C κυριαρχούσαν τα PAOs, στους 30 °C έγινε εμφανής η κυριαρχία των GAOs και, παράλληλα, ο αναερόβιος ρυθμός πρόσληψης οξικού οξέος των GAOs ήταν υψηλότερος στους 30°C απ' ότι των PAOs, με αποτέλεσμα την ενδεχόμενη αποτυχία απομάκρυνσης φωσφόρου σε ψηλές θερμοκρασίες.

Επιπλέον, οι Lopez-Vazquez et al. (2007) μελέτησαν την επίδραση της θερμοκρασίας στο εύρος 10°C - 40°C στον αερόβιο και τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs και των GAOs και παρατήρησαν ότι τα GAOs αποκτούν προφανή ανταγωνιστικά πλεονεκτήματα έναντι των PAOs για την πρόσληψη άνθρακα σε θερμοκρασίες 20 – 35 °C. Για θερμοκρασίες μικρότερες των 20 °C, και οι δύο ομάδες οργανισμών εμφανίζουν παρόμοιες θερμοκρασιακές εξαρτήσεις, αν και τα PAOs ευνοούνται δεδομένου ότι παρουσιάζουν χαμηλότερες απαιτήσεις αναερόβιας συντήρησης, ενώ τα GAOs εμφανίζουν χαμηλό ρυθμό ανάπτυξης. Επομένως, λαμβάνοντας υπόψη τις συνδυασμένες θερμοκρασιακές επιδράσεις στους αναερόβιους και αερόβιους μεταβολισμούς, οι θερμοκρασίες υψηλότερες από 20°C είναι πιο ευνοϊκές για τα GAOs με βέλτιστη θερμοκρασία κοντά στους 30 °C, ενώ, τα PAOs ευνοούνται σε θερμοκρασίες κάτω των 20 °C, με τη βέλτιστη θερμοκρασία να κυμαίνεται γύρω στους 20°C.

Σε μια διαφορετική προσέγγιση, οι Lopez-Vazquez et al. (2009b) δημιούργησαν ένα μεταβολικό μοντέλο που ενσωματώνει την πηγή άνθρακα, τη θερμοκρασία και το pH και τις εξαρτήσεις των μικροοργανισμών από αυτά. Ο κύριος στόχος ήταν να εκτιμηθούν οι συνθήκες που είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξη των PAOs και, επομένως, ευεργετικές για τη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι σε χαμηλή θερμοκρασία (10 °C) οι PAOs ήταν οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί ανεξάρτητα από την πηγή άνθρακα ή το

pH, ενώ σε μέτρια θερμοκρασία (20 °C) για να επέλθει η κυριαρχία των PAOs έπρεπε να υπάρχει και το προπιονικό και το οξικό ως πηγή άνθρακα με αναλογίες 50 - 50% ή 75 - 25%. Ωστόσο, η χρήση μόνο μιας πηγής άνθρακα δεν ήταν ευνοϊκή σε αυτές τις θερμοκρασίες, εκτός όταν το pH ήταν ψηλό (>7.5). Σε υψηλότερη θερμοκρασία (30 °C), τα GAOs έτειναν να είναι οι κυρίαρχοι μικροοργανισμοί.

Όσον αφορά τα DPAOs, οι Ferrentino et al. (2017) εκτέλεσαν batch πειράματα σε θερμοκρασίες 5 - 20 °C. Φάνηκε ότι η θερμοκρασία επηρέασε αναλογικά την πρόσληψη και την έκκλιση φωσφόρου. Η δραστηριότητα των DPAOs σε χαμηλότερες θερμοκρασίες επηρεάστηκε περισσότερο απ' ότι των PAOs στις ανοξικές και αερόβιες συνθήκες, αντίστοιχα, καθώς η στοιχειομετρία του ανοξικού μεταβολισμού των DPAOs ήταν έντονα ευαίσθητη στη θερμοκρασία, ενώ, οι αλλαγές θερμοκρασίας φαίνεται να μην είχαν αρνητικές επιπτώσεις στον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Αντίθετα, η θερμοκρασία είχε ισχυρό αντίκτυπο στην κινητική της διαδικασίας τόσο σε αναερόβιες όσο και σε αερόβιες και ανοξικές συνθήκες. Ο ανοξικός μεταβολισμός των DPAOs σημείωσε, κυρίως, την υψηλότερη ευαισθησία στη μείωση της θερμοκρασίας.

Η θερμοκρασία ενδέχεται να επηρεάσει έντονα τη μικροβιολογική δραστηριότητα. Κάθε μικροβιακή ομάδα χαρακτηρίζεται από ανώτερα και κατώτερα όρια θερμοκρασίας για την ανάπτυξή της. Οι θερμοκρασίες κάτω από το βέλτιστο όριο έχουν συνήθως πιο σημαντική επίδραση στον ρυθμό ανάπτυξης από τις θερμοκρασίες πάνω από το βέλτιστο (Ferrentino et al., 2017). Διερευνώντας την επίδραση της θερμοκρασίας στη μικροβιολογική κοινότητα ενός συστήματος βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, οι (Panswad et al., 2003) μελέτησαν την επιρροή της διακύμανσης της θερμοκρασίας για θερμοκρασία ίση με 20 °C, 30 °C και 35.5 °C . Η αντίστοιχη κυρίαρχη ομάδα ήταν, τα PAOs, τα GAOs και τα συνηθισμένα ετεροτροφικά βακτηρίδια, καλύπτοντας ένα ποσοστό επί των συνολικού VSS ίσο με 47-70%, 64-75% και 90%, αντίστοιχα. Ακόμη, παρατηρήθηκε μείωση της ταχύτητας πρόσληψης φωσφόρου καθώς η θερμοκρασία αυξανόταν, υποδεικνύοντας των ψυχρόφιλο χαρακτήρα των PAOs. Με την αύξηση της θερμοκρασίας, το μέρος της ενέργειας που απαιτείται για

συντήρηση αυξάνεται σημαντικά, γεγονός που μειώνει τη διαθεσιμότητα ενέργειας για αναπαραγωγή κυττάρων, οδηγώντας στο «ξέπλυμα» των PAOs.

Τα πειραματικά στοιχεία που ελήφθησαν μέχρι στιγμής υποδηλώνουν ότι τα GAOs τείνουν να γίνουν ισχυρότεροι ανταγωνιστές των PAOs σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Αυτό σημαίνει ότι ο ανταγωνισμός τους μπορεί να είναι πιο προβληματικός στα θερμά κλίματα και κατά τους καλοκαιρινούς μήνες (Oehmen et al., 2007).

2.5.4 SRT – HRT

Ο υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT) είναι ένα μέτρο του μέσου χρονικού διαστήματος παραμονής των λυμάτων σε μια μονάδα επεξεργασίας. Αποτελεί το αντίστροφο της ογκομετρικής υδραυλικής φόρτισης, δηλαδή υπολογίζεται ως ο όγκος της δεξαμενής διαιρούμενη με τον ρυθμό εισροής, και ελέγχει το χρόνο που δίνεται στους μικροοργανισμούς να εκτελέσουν τις διάφορες βιολογικές διεργασίες. Κάθε ομάδα μικροοργανισμών χαρακτηρίζεται από το βέλτιστο χρόνο επαφής της με τα εισερχόμενα λύματα για να μεγιστοποιηθεί ο ρυθμός ανάπτυξής της. Με αυτή τη λογική, λοιπόν, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής μπορεί να επιδράσει στον ανταγωνισμό των PAOs με των GAOs, ευνοώντας την επιθυμητή ομάδα.

Αναερόβια, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής πρέπει να είναι αρκετός για τα μεγιστοποιείται η απομάκρυνση του οργανικού φορτίου από τα PAOs, ενώ αερόβια πρέπει να υπάρχει επαρκής χρόνος για την απορρόφηση του φωσφόρου. Καθώς η αερόβια δεξαμενή είναι μεγαλύτερη από την αναερόβια, συνήθως ο χρόνος που διατίθεται είναι ικανοποιητικός ώστε να εκτελεστούν οι απαραίτητες διεργασίες, δηλαδή η οξείδωση του οργανικού φορτίου, η νιτροποίηση και η απομάκρυνση του φωσφόρου (Μαμάης Δ., 2020).

Στη βιβλιογραφία, αναφέρεται ότι ένα μεγάλο αερόβιο HRT επιδρά ευνοϊκά στα GAOs, προωθώντας τον πολλαπλασιασμό τους έναντι των PAOs και μειώνοντας την αποτελεσματικότητα της απομάκρυνσης του φωσφόρου (Carvalho et al., 2014c). Φαίνεται ότι, λόγω του μεγάλου χρόνου, τα αποθέματα σε PHAs εξαντλήθηκαν πριν το

πέρας της αερόβιας φάσης και έλαβε χώρα απελευθέρωση του φωσφόρου ως πηγή ενέργειας για τη συντήρηση των κυττάρων. Αποτέλεσμα ήταν τόσο η υψηλότερη ποσότητα φωσφόρου στην εκροή, όσο και η μειωμένη διατιθέμενη ποσότητα των πολυφωσφορικών για πρόσληψη VFAs στην αναερόβια φάση. Αυτό συνεπάγεται ότι, αφού η περιεκτικότητα των PAOs σε πολυφωσφορικά μειώθηκε με τη πάροδο του χρόνου, μειώνεται η πρόσληψη VFAs από τα PAOs, αφήνοντας, έτσι, περισσότερα VFAs διαθέσιμα για τα GAOs.

Το φαινόμενο της έκλυσης φωσφόρου λόγω του παρατεταμένου αναερόβιου υδραυλικού χρόνου παραμονής, χωρίς πρόσληψη οργανικών ενώσεων, ονομάζεται «δευτερογενής απελευθέρωση φωσφόρου» (Barnard et al., 1998). Συγκεκριμένα, αφού εξαντληθεί ο βιοαποικοδομήσιμος οργανικός άνθρακας, οι μικροοργανισμοί υδρολύουν τα αποθηκευμένα πολυφωσφορικά, ώστε να γίνει παραγωγή της απαραίτητης ενέργειας για συντήρηση του κυττάρου, οδηγώντας σε αύξηση της συγκέντρωσης του διαλυμένου φωσφόρου. Η ανισορροπία που προκύπτει μεταξύ του φωσφόρου που απελευθερώνεται και των αποθηκευμένων VFAs ως PHAs, συνεπάγεται ότι η ενέργεια που είναι διαθέσιμη ως PHAs για την μετέπειτα αερόβια απομάκρυνση φωσφόρου είναι ελλιπής, και, τελικά, η συνολική απομάκρυνση φωσφόρου είναι μειωμένη (Barnard et al., 2006). Γενικά, προτείνεται το αναερόβιο HRT να μην ξεπερνά τις 2.5 ώρες (Μαμάης Δ., 2020), ενώ μια διάρκεια από 0.25 ως 1 ώρα έχει φανεί επαρκές για να επιτευχθούν οι απαραίτητες βιολογικές διεργασίες (Coats et al., 2011).

Με μια ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας, υπάρχουν πολλές αναφορές που υποστηρίζουν την αρνητική επίδραση του μεγάλου HRT. Οι Rezvani et al. (2019) αναφέρουν ότι ο αναερόβιος μεταβολισμός των DPAOs και η μικροβιακή δομή της κοινότητας επηρεάστηκαν σε μεγάλο βαθμό από την αύξηση του αναερόβιου HRT, το οποίο είχε αρνητικό αντίκτυπο στις δραστηριότητες των ενδοκυτταρικών ενζύμων και των ενδοκυτταρικών ενδιάμεσων μεταβολιτών, μέσω συχνότερης αναχαίτισης λόγω FNA, μειωμένης απονιτροποίησης και μειωμένων επιπέδων πολυφωσφορικών. Επιπλέον, οι Song et al. (2009) παρατήρησαν βελτίωση της απομάκρυνσης αζώτου και φωσφόρου με τη

μείωση του HRT, καθώς η φόρτιση F/M αυξήθηκε και, έτσι, ενισχύθηκαν οι βιολογικές δραστηριότητες των DPAOs.

Από την άλλη, οι Coats et al. (2011) αναφέρουν ότι αναερόβιο HRT μεταξύ 1 έως 3 ωρών, οδήγησαν σε εμπλουτισμό των PAOs σε ποσοστό 7.1 έως 21.6% του συνολικού πληθυσμού, ενώ δεν παρατήρησαν αρνητική επίδραση της εκτεταμένης αναερόβιας έκθεσης ούτε στην απόδοση της απομάκρυνσης φωσφόρου, ούτε στον πληθυσμό των PAOs, ακόμα και όταν εξαντλήθηκαν τα πτητικά λιπαρά οξέα. Αντιθέτως, σημειώνουν ότι εκτεταμένα HRT μπορεί να επηρεάσουν θετικά την απομάκρυνση του φωσφόρου μέσω αυξημένης αερόβιας πρόσληψης.

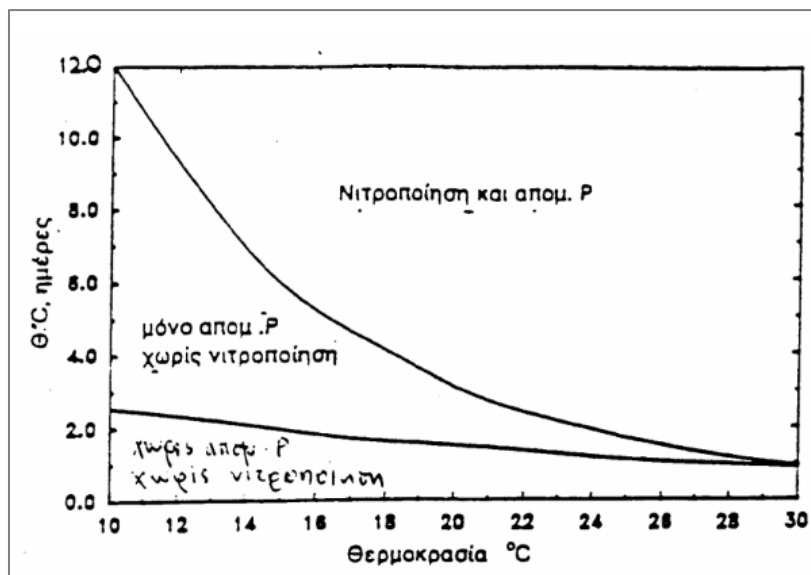
Ο χρόνος παραμονής στερεών (SRT) είναι ο χρόνος που τα στερεά της ενεργού ιλύος βρίσκονται στο σύστημα. Αποτελεί μια σημαντική παράμετρο σχεδιασμού και λειτουργίας για τη σύστημα ενεργού ιλύος και εκφράζεται συνήθως σε ημέρες, ενώ ρυθμίζεται μέσω της περίσσειας ιλύος που αφαιρείται καθημερινά από το σύστημα.

Στη βιβλιογραφία οι βέλτιστες τιμές για το χρόνο παραμονής στερεών ποικίλουν, χωρίς να έχει αναγνωριστεί ένα περιοριστικό εύρος τιμών. Για παράδειγμα, οι Li et al. (2008) παρατήρησαν υψηλότερη απόδοση απομάκρυνσης φωσφόρου για SRT ίσο με 8.3 ημέρες συγκριτικά με το SRT ίσο με 16.6 ημέρες, καθώς η αύξηση του SRT οδήγησε σε μείωση της περίσσειας ιλύος με συνεπαγόμενη μειωμένη απομάκρυνση φωσφόρου. Αντίθετα, οι Lee et al. (2007) αναφέρουν αύξηση της περιεκτικότητας του φωσφόρου στη βιομάζα με την αύξηση του SRT, μελετώντας τιμές SRT 15, 20 και 30 ημερών, με τη βέλτιστη απομάκρυνση να προκύπτει σε SRT 20 ημερών, ενώ οι Yoon et al. (2004) κατέγραψαν μειωμένη αφαίρεση φωσφόρου όταν το SRT ξεπέρασε τις 20 ημέρες και οι Carrera et al. (2001) προτείνουν ένα βέλτιστο χρόνο κοντά στις 10 ημέρες. Επιπλέον, οι Zhu et al. (2013) μελέτησαν την επίδραση του SRT για τιμές 5, 10 και 15 ημέρες στην απόδοση απομάκρυνσης φωσφόρου. Τα αποτελέσματα έδειξαν απόδοση ίση με 82.7%, 97.3% και 97.3%, αντίστοιχα, ενώ η αποτελεσματικότητα χρήσης οξικού για την απελευθέρωση φωσφόρου με SRTs 10 και 15 ημερών ήταν πολύ υψηλότερη από αυτήν με SRT ίση με 5 ημέρες, αποδεικνύοντας ότι ένα

σχετικά μεγάλο SRT επιδρά θετικά στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Από την άλλη, οι Ersu et al. (2010) διαπίστωσαν ότι η απόδοση αφαίρεσης φωσφόρου έφτασε περίπου το 80% για SRT ίσο με 50 ημέρες, ενώ μειώθηκε στο 60% στις 75 ημέρες SRT. Αυτό το φαινόμενο αποδόθηκε σε αύξηση της λύσης των μικροβιακών κυττάρων σε υψηλό SRT μαζί με χαμηλή φόρτιση F/M στην ανοξική δεξαμενή. Οι Roots et al. (2020) παρατήρησαν 83% απομάκρυνση ορθοφωσφορικών σε έναν αντιδραστήρα SBR με $SRT = 1.8 \pm 0.2$ ημέρες και $HRT = 3.7-4.8$ ώρες.

Όσον αφορά τον ελάχιστο αναερόβιο χρόνο παραμονής στερεών, εξαρτάται από το ρυθμό οξειδωσης των PHAs κατά την αερόβια φάση. Μπορεί να επιδράσει στον ανταγωνισμό PAOs – GAOs, καθώς ο ρυθμός οξειδωσης είναι μικρότερος για τα PAOs σε σχέση με τα GAOs, και, άρα, για να έχουν πλεονέκτημα τα PAOs πρέπει το αερόβιο SRT να είναι μεγαλύτερο (Filipe et al., 2001b).

Για μικρότερα SRT, ο βέλτιστος χρόνος εξαρτάται και από τη θερμοκρασία. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται η επίδραση του χρόνου παραμονής και της θερμοκρασίας για μικρά SRT στην βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου και στην νιτροποίηση (Σχήμα 2.9).



Σχήμα 2.9: Επίδραση του SRT και της θερμοκρασίας στην βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου και στην νιτροποίηση (Μαμάης Δ., 2020)

Τέλος, σχετικά με τον ανταγωνισμό των PAOs και των GAOs, το SRT παίζει καθοριστικό ρόλο στο ποιος πληθυσμός θα κυριαρχήσει. Αν και ένα μεγαλύτερο SRT ενδέχεται να δώσει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα GAOs (Yoon et al., 2004; Seviour et al., 2003), εάν το SRT είναι πολύ χαμηλό τα PAOs ίσως «ξεπλυθούν» από το σύστημα και η μικροβιακή κοινότητα θα κυριαρχείται από ετεροτροφικά βακτήρια (Zheng et al., 2014).

2.5.5 Οργανική τροφή

Το είδος και η ποσότητα της οργανικής τροφής έχει προταθεί ως ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζουν την κοινοτική δομή σε ένα σύστημα με βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου (Nielsen et al., 2010). Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, τα PAOs προσλαμβάνουν την οργανική τροφή με τη μορφή πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) σε αναερόβιες συνθήκες και την αποθηκεύουν ως PHAs, τα οποία οξειδώνουν σε αερόβιες συνθήκες. Έτσι, παράγουν την απαραίτητη ενέργεια για να δεσμεύσουν τον διαλυτό φώσφορο. Την ίδια ικανότητα πρόσληψης της οργανικής τροφής παρουσιάζουν και τα GAOs, και, άρα, οι δύο ομάδες μικροοργανισμών ανταγωνίζονται μεταξύ τους για την πρόσληψη των VFAs.

Όσον αφορά τη ποσότητα της οργανικής τροφής, έχει αποδειχθεί ότι αυξημένη δόση οξικού οξέος υπό αναερόβιες συνθήκες οδήγησε σε υψηλότερη απελευθέρωση φωσφόρου και αυξημένη αποθήκευση υπό μορφή PHAs από τα PAOs και σε μεγαλύτερους ρυθμούς πρόσληψης φωσφόρου υπό τις ακόλουθες αερόβιες ή ανοξικές συνθήκες (Karagiannidis et al., 2013). Συγκριτικά με τα GAOs, οι Vargas et al. (2013) αναφέρουν ότι τα PAOs επηρεάστηκαν περισσότερο από τα GAOs όταν δεν εισερχόταν καθόλου οργανική τροφή στο σύστημα, γιατί τα αποθέματά τους σε πολυφωσφορικές αλυσίδες εξαντλήθηκαν γρηγορότερα απ' ό,τι τα αποθέματα γλυκογόνου των GAOs, τα οποία είχαν δυνατότητα να παράγουν ενέργεια για τη συντήρηση των κυττάρων τους για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Επίσης, η παραγωγή των PHA από τα PAOs μειώθηκε αρκετά. Αντίθετα, οι Carvalho et al. (2014a) αναφέρουν ότι χαμηλή συγκέντρωση οργανικής τροφής έδωσε πλεονέκτημα στα PAOs έναντι των GAOs, καθώς ο ρυθμός φθοράς των GAOs ήταν περίπου

τέσσερις φορές ψηλότερος από τον αντίστοιχο ρυθμό των PAOs, γιατί τα PAOs δεν καταναλώναν όλα τα αποθηκευμένα PHAs υπό αερόβιες συνθήκες, και, άρα διέθεταν αποθέματα ενέργειας για τη συντήρηση του κυττάρου τους.

Αναφορικά με το είδος της τροφής, σημειώνεται ότι τα VFAs είναι πάντα περιορισμένα στα αστικά λύματα και συχνά είναι απαραίτητο να προστεθεί επιπλέον πηγή άνθρακα για να βελτιωθεί η απόδοση απομάκρυνσης θρεπτικών ουσιών στις ΕΕΛ, οπότε η εύρεση της καταλληλότερης πηγής άνθρακα που θα ευνοήσουν τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια είναι πολύ χρήσιμη (Wang et al., 2020). Γενικά, προτιμάται η χρήση απλών οργανικών ενώσεων (Short Chain Fatty Acids - SCFAs) που μπορούν να μεταβολιστούν εύκολα (Mino et al., 1998). Το οξικό και το προπιονικό έχουν μελετηθεί ευρέως ως πηγές άνθρακα, δεδομένου ότι είναι τα πιο συνηθισμένα VFAs που υπάρχουν στα λύματα (Ahn et al., 2006b; Thomas et al., 2003). Εκτός από αυτά, στα συστήματα ενεργού ιλύος υπάρχει ένα μεγάλο εύρος υποστρωμάτων όπως βουτυρικό, βαλεριανικό, γαλακτικό, μυρμηκικό και άλλα πτητικά λιπαρά οξέα (Oehmen et al., 2007). Στον ακόλουθο πίνακα συνοψίζεται η επίδραση διαφόρων ευκολοδιασπάσιμων ενώσεων στον ρυθμό αναερόβιας έκλυσης φωσφόρου και απορρόφησης οργανικού φορτίου (Μαμάης Δ., 2020). Φαίνεται ότι το οξικό και το προπιονικό οξύ ευνοούν περισσότερο την προσρόφηση οργανικού άνθρακα.

Πίνακας 2.1: Ρυθμός απομάκρυνσης οργανικού φορτίου και έκλυσης φωσφόρου κάτω από αναερόβιες συνθήκες (Μαμάης Δ., 2020)

Οργανική Ένωση	Έκλυση P/ Απομάκρυνση Οργανικής Ένωσης (mole: mole)	Ρυθμός Απομάκρυνσης COD (mg COD/gVSS*hr)
Οξικό οξύ	1.4 – 1.5	50
Μυρμηκικό οξύ	0.2	4
Προπιονικό οξύ	2.1	50
Μίγμα προπιονικό/οξικό 2:1	1.5	80
Βουτυρικό οξύ	3.7	5
Βαλεριανικό οξύ	1.8	3.5
Γαλακτικό οξύ	1.9	7

Ο τύπος της πηγής άνθρακα έχει άμεση επίδραση στον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs και των GAOs (Oehmen et al., 2005c). Σημειώνεται ότι τα PAOs είναι σε θέση να προσλάβουν, τόσο το οξικό, όσο το προπιονικό με την ίδια αποτελεσματικότητα και με παρόμοιο κινητικό ρυθμό (Oehmen et al., 2006a; Oehmen et al., 2005b,c). Οι Kong et al. (2004) δοκίμασαν διάφορα υποστρώματα που συλλέχθηκαν από εγκαταστάσεις επεξεργασίας οικιακών λυμάτων και βρήκαν ότι το *Accumulibacter* ήταν ικανό να αφομοιώσει οξικό, προπιονικό, πυροσταφυλικό και γλουταμινικό, αλλά όχι άλλες ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, όπως μυρμηκικό, αιθανόλη, βουτυρικό και γλυκόζη. Αμινοξέα όπως λευκίνη, θυμιδίνη και ασπαρτικό δεν μπορούσαν να αφομοιωθούν ως μοναδικά υποστρώματα, όμως μπορούσαν να αφομοιωθούν ως συν-υποστρώματα με το οξικό. Από την άλλη, άλλες μελέτες αναφέρουν ότι το βουτηρικό θα μπορούσε να ληφθεί από το *Accumulibacter*, αν και σε χαμηλότερους ρυθμούς απ' ότι το οξικό και το προπιονικό, ενώ είναι προτιμότερο από το βαλεριανικό (Cai et al., 2019; Begum et al., 2014; Pijuan et al., 2004; Oehmen et al., 2004).

Οι Wang et al. (2020) αναφέρουν ότι ένα συνδυασμένο υπόστρωμα οξικού, προπιονικού και βουτυρικού φάνηκε να είναι ένας καλύτερος συνδυασμός πηγής άνθρακα, καθώς ο συνολικός ρυθμός πρόσληψης VFAs αυξήθηκε έως και 46% και αυτό αύξησε την αερόβια απόδοση απομάκρυνσης φωσφόρου έως και 38.4% και μείωσε την ανάκτηση του γλυκογόνου κατά περισσότερο από 63% σε σύγκριση με τη χρήση μόνο του προπιονικού ως υποστρώματος. Επιπλέον, διερεύνησαν τις επιδράσεις διαφορετικών πηγών άνθρακα στα PAOs σε ψηλή θερμοκρασία (30 °C) και συνέκριναν τον μετασχηματισμό του άνθρακα όταν η θερμοκρασία ήταν χαμηλότερη (20 °C). Ενώ τα PAOs φάνηκαν να προτιμούν το προπιονικό σε σύγκριση με άλλα VFAs σε υψηλή θερμοκρασία, πραγματοποιήθηκε υψηλή αναπλήρωση γλυκογόνου αερόβια, ένα χαρακτηριστικό που δεν είχε παρατηρηθεί προηγουμένως σε χαμηλές θερμοκρασίες. Άρα, συμπέραναν ότι το προπιονικό δεν σχετίζεται με την υψηλή απομάκρυνση του φωσφόρου σε ψηλές θερμοκρασίες.

Αντίστοιχα, οι Lopez-Vazquez et al. (2009b) συμφωνούν ότι ένα μίγμα VFAs, συγκεκριμένα 75% οξικό και 25% προπιονικό ή 50% οξικό και 50% προπιονικό, δίνει ανταγωνιστικό

πλεονέκτημα στα PAOs των GAOs, ίσως λόγω της συνεργατικής δράσης των δύο VFAs. Από την άλλη, οι (Zhang et al., 2020b) υποστηρίζουν ότι υψηλός λόγος προπιονικό οξύ/οξικό οξύ βελτιώνει την απόδοση απομάκρυνσης φωσφόρου και COD, επιτυγχάνοντας μέχρι και 94% απομάκρυνση.

Οι Carvalho et al. (2014b) διερεύνησαν την επίδραση της σύνθεσης της πηγής άνθρακα στην αναερόβια και αερόβια κινητική των PAOs και στην απόδοση της απομάκρυνσης του φωσφόρου. Αποδείχτηκε ότι το προπιονικό εξαντλήθηκε ταχύτερα από το οξικό, ενώ ο ρυθμός πρόσληψης του οξικού οξέος μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης του προπιονικού, λόγω του ανταγωνισμού των δύο υποστρωμάτων, υπογραμμίζοντας την προτίμηση των βακτηρίων αυτών στο προπιονικό οξύ. Οι αερόβιοι ρυθμοί πρόσληψης φωσφόρου, παραγωγής γλυκογόνου και παραγωγής PHA φάνηκαν ανεξάρτητοι από τη συγκέντρωση του οξικού και του προπιονικού.

Σε μια μελέτη για τις βραχυπρόθεσμες επιπτώσεις της σύστασης των πτητικών λιπαρών οξέων, δηλαδή της πηγής άνθρακα, στην απόδοση των PAOs και των GAOs, φάνηκε ότι η ικανότητα των δύο ομάδων να χρησιμοποιούν διαφορετικά υποστρώματα άνθρακα διαφέρει. Και οι δύο μπόρεσαν να προσλαμβάνουν το οξικό οξύ γρήγορα. Όταν όμως η πηγή των VFAs άλλαξε απότομα από οξικό οξύ σε προπιονικό οξύ, τα GAOs δεν μπόρεσαν να το καταναλώσουν γρήγορα, ενώ τα PAOs το προσέλαβαν αμέσως, αποδεικνύοντας ότι σε βραχυπρόθεσμη βάση αποκτούν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα κατά τη διάρκεια αντίστοιχων αλλαγών υποστρώματος. Η πρόσληψη άλλων πηγών άνθρακα που εξετάστηκαν (βαλεριανικό, βουτηρικό, γαλακτικό) ήταν περιορισμένη, ενώ σημειώνεται ότι τα PAOs φάνηκε να προτιμούν το προπιονικό ως πηγή άνθρακα (Oehmen et al., 2004). Επιπλέον, η Θέμελη (2019) παρατήρησε ότι η αλλαγή της οργανικής τροφής από προπιονικό σε οξικό οξύ προκάλεσε αύξηση του αερόβιου ρυθμού δέσμευσης φωσφόρου, όμως κατά την αντίστροφη εναλλαγή ο αερόβιος μεταβολισμός των πολυφωσφορικών βακτηρίων αναχαιτίστηκε. Επίσης, αναφέρει ότι ο μέσος ρυθμός αερόβιας δέσμευσης φωσφόρου που επιτυγχάνεται με το οξικό οξύ ως πηγή άνθρακα είναι μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο ρυθμό στην περίπτωση του προπιονικού οξέος.

Παράλληλα, υλοποιήθηκε μια έρευνα από τους Rijkman et al. (2004), οι οποίοι εξέτασαν την επίδραση διαφορετικών πηγών άνθρακα, και, συγκεκριμένα, το προπιονικό, το οξικό, το βουτυρικό και τη γλυκόζη σε σύστημα βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου όπου η βιομάζα είχε το προπιονικό ως τη μοναδική πηγή άνθρακα. Η μελέτη έγινε και για κάθε πηγή ξεχωριστά και για ένα συνδυασμό όλων των οξέων και αποδείχτηκε ότι το προπιονικό ήταν το υπόστρωμα με τον υψηλότερο ρυθμό πρόσληψης για όλες τις περιπτώσεις, ενώ απαιτούσε και τη λιγότερη αναγωγική ισχύ. Αξιολογήθηκε ο λόγος ανάκτησης άνθρακα κατά την αναερόβια φάση, όπου η χαμηλότερη τιμή παρατηρήθηκε για το βουτυρικό, ενώ η υψηλότερη τιμή για το οξικό και παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη σύνθεση PHAs ανάλογα με την πηγή άνθρακα. Το τελευταίο βρίσκει σύμφωνους και τους Oehmen et al. (2005c) οι οποίοι αναφέρουν ότι, σε αντίθεση με τον αναερόβιο μεταβολισμό του οξικού, ο οποίος προκαλεί κυρίως παραγωγή PHB, τα κύρια κλάσματα των PHAs που παράγονται με προπιονικό ως πηγή άνθρακα είναι το PHV και το PH2MV.

Σε συμφωνία με τις προηγούμενες μελέτες, οι Wang et al. (2010), οι οποίοι μελέτησαν την μακροπρόθεσμη επίδραση διαφόρων πηγών άνθρακα (οξικό, προπιονικό, γλυκόζη) στον ανταγωνισμό μεταξύ PAOs και GAOs, αναφέρουν ότι το προπιονικό ήταν περισσότερο ωφέλιμο από το οξικό για τα PAOs. Ακόμα και όταν τα PAOs είχαν εγκλιματιστεί στο οξικό, ήταν σε θέση να μεταβολίσουν εύκολα το προπιονικό χωρίς την ανάγκη προσαρμογής. Από την άλλη, η γλυκόζη έδωσε μεταβολικό πλεονέκτημα στα GAOs. Επίσης, έγινε δοκιμή ανάκτησης η οποία έδειξε ότι η επιδείνωση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου λόγω του υπερβολικού πολλαπλασιασμού των GAOs όταν η γλυκόζη ήταν η πηγή άνθρακα, μπορεί να ανακάμψει εκ νέου όταν οι συνθήκες μεταβληθούν σε αυτές που ευνοούν τα PAOs, δηλαδή όταν η πηγή άνθρακα γίνει το οξικό ή το προπιονικό. Από μικροβιακής άποψης, υποθέτουμε ότι ένα μικρό μέρος των PAOs εξακολουθεί να επιβιώνει. Παρ' όλα αυτά, η ανάκτηση της απόδοσης απαιτεί χρόνο και η διάρκεια της περιόδου ανάκαμψης βρέθηκε ίση με περίπου 2 SRT. Αυτό υποδηλώνει ότι η εναλλαγή του άνθρακα μπορεί να είναι μια αποτελεσματική προσέγγιση για να παρέχει στους PAOs ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι των GAOs.

Μια αντίστοιχη μελέτη έγινε από τους Oehmen et al. (2005b) όπου καλλιέργειες εμπλουτισμένες με PAOs και GAOs δοκιμάστηκαν στα πιο συχνά VFAs, το προπιονικό και το οξικό, ενώ οι πληθυσμοί των μικροοργανισμών πολιτικοποιήθηκαν με τη μέθοδο φθορισμού FISH. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα PAOs που είχαν εμπλουτιστεί με το οξικό ως τη μοναδική πηγή άνθρακα ήταν σε θέση να προσλάβουν προπιονικό με παρόμοιο ρυθμό μόλις άλλαξε η πηγή άνθρακα. Αντίθετα, σε αντίστοιχες συνθήκες τα GAOs φάνηκαν να είναι πολύ λιγότερο αποτελεσματικά στην πρόσληψη του προπιονικού, σημειώνοντας ένα ρυθμό ίσο με περίπου 5% του ρυθμού πρόσληψης του οξικού, υποδηλώνοντας ότι τα PAOs είναι πιο προσαρμόσιμα στις αλλαγές στην πηγή άνθρακα σε σύγκριση με τα GAOs. Από την άλλη, οι (Dai et al., 2007) παρατήρησαν πως το γένος *Defluviicoccus vanus* των GAOs έδειξε προτίμηση στο προπιονικό οξύ έναντι του οξικού οξέος όταν το υπόστρωμα περιείχε συνδυασμό των δύο, μεγιστοποιώντας την αποθήκευση των πηγών άνθρακα και της ενέργειας με την αναερόβια κατανάλωση του προπιονικού, ενώ σημειώνουν ότι η παρουσία οξικού διεγείρει την πρόσληψη του προπιονικού, αυξάνοντάς την κατά 60% σε σύγκριση με την περίπτωση όπου το προπιονικό ήταν παρόν μόνο του, πιθανότατα λόγω του αυξημένου ποσοστού γλυκόλυσης. Η ισχυρή ικανότητα του συγκεκριμένου γένους να μεταβολίζει σε μεγάλο βαθμό και το οξικό και το προπιονικό, το καθιστά σημαντικό ανταγωνιστή των PAOs.

Οι Oehmen et al. (2010a) συγκρίνοντας τα προτιμώμενα είδη VFA ως δότη ηλεκτρονίων και τα νιτρικά ή τα νιτρώδη ως δέκτη ηλεκτρονίων, κατέληξαν ότι κανένα από τα αναφερόμενα GAOs δεν μπορούσε να επιβιώσει σε ένα σύστημα με το προπιονικό ως μοναδικό δότη ηλεκτρονίων και τα νιτρώδη ως μοναδικό δέκτη ηλεκτρονίων, άρα, ο συνδυασμός αυτών των δύο συνθηκών θα οδηγήσουν στην έκπλυση των GAOs από το σύστημα και στον εμπλουτισμό των PAOs.

Επιπλέον, οι Wang et al. (2009) προτείνουν ότι το οξικό είναι ένα καλύτερο υπόστρωμα από τη γλυκόζη για την κοινότητα των PAOs, επειδή η ενέργεια που απαιτείται για τη μετατροπή του σε PHA παρέχεται εύκολα από τους μετασχηματισμούς των πολυφωσφορικών. Από την άλλη πλευρά, η μετατροπή της γλυκόζης από τα GAOs αποδίδει από μόνη της μεγάλες

ποσότητες ενέργειας, και έτσι ελαχιστοποιείται ο ρόλος των πολυφωσφορικών. Το γεγονός ότι η γλυκόζη ενδέχεται να αποτελέσει ανταγωνιστικό εργαλείο υπέρ των GAOs υποστηρίχθηκε και από τους Zengin et al. (2010). Αν και μπορεί να αποτελέσει έμμεση πηγή άνθρακα μέσω του γαλακτικού οξέος που παράγεται κατά τη ζύμωση της, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τα PAOs, τα GAOs μπορούν να τη χρησιμοποιήσουν άμεσα, και, άρα, το διατεθειμένο γαλακτικό κατά την αναερόβια φάση μειώνεται, τα GAOs πολλαπλασιάζονται, τα PAOs αποδυναμώνονται και η ύπαρξη γαλακτικού στην αερόβια φάση διεγείρει τελικά την ανάπτυξη νηματοειδών βακτηρίων. Έτσι, η απομάκρυνση φωσφόρου αποτυγχάνει.

Μια διαφορετική μελέτη εκπονήθηκε από τους Guerrero et al. (2011), όπου έγινε η διερεύνηση του ανταγωνισμού μεταξύ PAOs και απονιτροποιητικών βακτηρίων ως προς τη πηγή άνθρακα σε συστήματα ταυτόχρονης βιολογικής αφαίρεσης αζώτου και φωσφόρου. Όταν η πηγή άνθρακα παρουσίαζε υψηλή περιεκτικότητα σε VFAs, τα PAOs μπορούσαν να κυριαρχήσουν των απονιτροποιητών, ενώ η δραστηριότητα της ετεροτροφικής απονιτροποίησης επηρεάστηκε περισσότερο από την απομάκρυνση φωσφόρου όταν το εισερχόμενο COD ήταν χαμηλής συγκέντρωσης. Η απομάκρυνση φωσφόρου απέτυχε όταν μια πιο σύνθετη ένωση (σακχαρόζη) χρησιμοποιήθηκε ως μοναδική πηγή άνθρακα. Από την άλλη, οι Cho et al. (2004) αναφέρουν ότι τα απονιτροποιητικά βακτήρια κυριάρχησαν των PAOs όταν το οξικό οξύ χρησιμοποιήθηκε ως πηγή άνθρακα.

Γενικά, το γεγονός ότι τα PAOs προτιμούν το προπιονικό οξύ έχει αναφερθεί εκτενώς στη βιβλιογραφία, ενώ σημειώνεται ότι αυτό μπορεί να αποτελέσει εργαλείο για να υπερισχύσουν οι PAOs έναντι των GAOs (Oehmen et al., 2006a; Chen et al., 2005; Chen et al., 2004; Thomas et al., 2003). Ενώ ο λόγος που συμβαίνει αυτό παραμένει ασαφής, μια πιθανή εξήγηση είναι ο αργός ρυθμός πρόσληψης του προπιονικού από τα GAOs (Oehmen et al., 2007).

2.5.6 Ελεύθερη αμμωνία

Η βιολογική επεξεργασία του αζώτου και του φωσφόρου λαμβάνουν χώρα σε ένα κοινό σύστημα, δηλαδή οι διαδικασίες της νιτροποίησης και της απονιτροποίησης και οι διεργασίες που σχετίζονται με τη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου συμβαίνουν ταυτόχρονα. Η μεταξύ τους αλληλεπίδραση μπορεί να οδηγήσει σε αποτυχημένη απομάκρυνση φωσφόρου (Zheng et al., 2014). Όπως είναι γνωστό, τόσο το άζωτο, όσο και ο φώσφορος είναι στοιχεία απαραίτητα για τους μικροοργανισμούς, όμως, σε ορισμένες συνθήκες και σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις μπορούν να αποβούν τοξικά για αυτούς.

Η τοξικότητα της ελεύθερης αμμωνίας σε διάφορους μικροοργανισμούς έχει ήδη αναφερθεί σε προηγούμενη ενότητα (βλ.2.2.4). Γενικά, η ελεύθερη αμμωνία μπορεί να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό τη μικροβιακή ποικιλομορφία, μειώνοντας την αφθονία βασικών μικροοργανισμών που είναι υπεύθυνοι για την αφαίρεση θρεπτικών ουσιών (δηλ. βακτήρια οξείδωσης αμμωνίας (AOBs), βακτήρια οξείδωσης νιτρωδών (NOBs) και πολυφωσφορικά βακτηρίδια (PAOs) και τις αντίστοιχες αποδόσεις απομάκρυνσης (Cao et al., 2017). Παρ' όλα αυτά, δεν έχουν γίνει πολλές έρευνες για την επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στα πολυφωσφορικά βακτήρια και στα βακτήρια συσσώρευσης γλυκογόνου, ώστε να έχουμε καθαρή εικόνα για την γενική επιρροή της στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου.

Όσες βιβλιογραφικές αναφορές υπάρχουν σήμερα, αναφέρουν ότι η δράση της στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στη μέθοδο, αναστέλλοντάς την και οδηγώντας σε αποτυχία απομάκρυνσης. Οι Cao et al. (2017) αναφέρουν μείωση της ποικιλομορφίας και της αφθονίας των πολυφωσφορικών βακτηριδίων όταν η συγκέντρωση της FA ξεπέρασε τα 10 mg NH₃/L, ενώ οι Yang et al. (2018) σημείωσαν μεγάλη αναστολή στα PAOs (>90%) όταν η FA ήταν ίση με 16 mg NH₃/L. Επιδείνωση στην αφαίρεση της απομάκρυνσης φωσφόρου παρατηρήθηκε και από τους (Freitas et al., 2009). Παράλληλα, η συγκέντρωση πάνω των 17.76 mg NH₃/L φάνηκε να επιδεινώνει σημαντικά την απόδοση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου, τη

μορφολογία της κοκκώδους υλύος και τη καθίζησή της (Zheng et al., 2013a). Το μέγεθος των σωματιδίων μειώθηκε, ενώ παρατηρήθηκε αποσύνθεση των κόκκων. Η επιρροή στη σταθερότητα της υλύος αποδίδεται στην κατασταλαμένη έκκριση πολυσακχαριτών. Σημειώνεται ότι παρατηρήθηκε εγκλιματισμός των PAOs όταν εκτέθηκαν σε σταθερή συγκέντρωση FA ίση με 8.88 mg NH₃/L για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Αναφορικά με την επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στον ανταγωνισμό μεταξύ PAOs και GAOs, οι Zheng et al. (2013a) αναφέρουν ότι άλλαξε την αναλογία των μικροοργανισμών του συστήματος, αφού πριν την έκθεση του συστήματος στην FA τα PAOs αποτελούσαν το 84.3% της συνολικής βιομάζας και τα GAOs το 11%, ενώ μετά, τα ποσοστά διαμορφώθηκαν σε 30.8% και 34.2%, αντίστοιχα, μειώνοντας, έτσι, τον πληθυσμό των πολυφωσφορικών βακτηριδίων κατά πολύ και δίνοντας ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα GAOs. Η σύνθεση της κοινότητας δεν κατάφερε να ανακάμψει μετά, αν και η απόδοση της απομάκρυνσης φωσφόρου βελτιώθηκε. Άλλες έρευνες αναφέρουν ότι η δραστηριότητα των PAOs μπορεί να ανακτηθεί μετά από αρκετές μέρες (Yang et al., 2018). Επίσης, οι Kim et al. (2008), οι οποίοι μελέτησαν σε ένα εργαστηριακό SBR την επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας, παρατήρησαν την αυξημένη ανάπτυξη DGAOs σε συγκέντρωση αμμωνίας ίση με 20 mg/L, χρησιμοποιώντας γλυκόζη ως μοναδική πηγή άνθρακα.

Η Μυσιρλή (2018) αναφέρει 30% αναχαίτιση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου FA ίση με 1.9 mg/L για το pH των 7, 10 mg/L για το pH των 7.5 και 13 mg/L pH των 8, ενώ 50% της αναχαίτισης παρατηρήθηκε για συγκέντρωση FA ίση με 2.7 mg/L για το pH των 7, 16 mg/L για το pH των 7.5 και 23 mg/L pH των 8.

Τέλος, η Καλλή (2019) μελέτησε πρόσφατα την επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου σε συστήματα επεξεργασίας στραγγιδίων αφυδάτωσης σε ένα SBR με μικτή καλλιέργεια PAO-GAO. Παρατηρήθηκε αναχαίτιση της βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου κατά 52% όταν η ελεύθερη αμμωνία είχε συγκέντρωση ίση με 7.7 mg NH₃/L, ενώ όταν η συγκέντρωση έγινε ίση με 28.6 mg NH₃/L η αναχαίτιση έφτασε στο 84%. Επιπλέον, φάνηκε ότι σε ψηλές συγκεντρώσεις FA τα PAOs παρουσίασαν

σημαντικά μικρότερη απόδοση στην πρόσληψη COD, καθώς και στην έκλυση φωσφόρου σε σχέση με τα GAOs, τα οποία δεν επηρεάζονται στις αναερόβιες συνθήκες από την παρουσία της FA.

2.5.7 Νιτρώδη – FNA

Η πιο συνήθης τοξική ουσία στην απομάκρυνση φωσφόρου είναι το νιτρώδες άζωτο και συγκεκριμένα το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (Free nitrous acid-FNA). Το νιτρώδες άζωτο αποτελεί ενδιάμεσο των διαδικασιών της νιτροποίησης και της απονιτροποίησης. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν στη συσσώρευσή του στον αντιδραστήρα (βλ.2.2.3). Ανάλογα της θερμοκρασίας και του pH, διαμορφώνεται η συγκέντρωσή του ως FNA. Σε όξινες συνθήκες, δηλαδή σε χαμηλά pH, η συγκέντρωση του FNA αυξάνεται (Park et al., 2015).

Το FNA επιδρά τοξικά στις μικροβιακές δραστηριότητες των μικροοργανισμών, οδηγώντας σε διαμόρφωση της μικροβιολογικής κοινότητας σε μια EEL (Zhou et al., 2011; Ma et al., 2010; Vadivelu et al., 2006a). Η επιρροή του στην απομάκρυνση αζώτου έχει αναφερθεί σε προηγούμενη ενότητα. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται ο τρόπος που επιδρά στην βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου.

Στη διεθνή βιβλιογραφία η αρνητική επίδραση της παρουσίας των νιτρωδών είναι τεκμηριωμένη, ακόμα και για πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (Freitas et al., 2009). Οι Saito et al. (2004) αναφέρουν αναστολή στην ανοξική και την αερόβια πρόσληψη φωσφόρου από τα PAOs λόγω των νιτρωδών και αρνητικό αντίκτυπο στο ένζυμο που σχετίζεται με την λήψη φωσφόρου και τον σχηματισμό των πολυφωσφορικών. Η αερόβια πρόσληψη φάνηκε πιο ευαίσθητη από την ανοξική. Την ίδια παρατήρηση για ανασταλτική επίδραση του FNA στο ρυθμό πρόσληψης φωσφόρου, αλλά και του οξυγόνου αναφέρουν οι Yoshida et al. (2006), αν και οι επισημαίνουν ότι μια προσαρμοσμένη σε νιτρώδη καλλιέργεια θα είχε ισχυρότερη ανοχή στην ανασταλτική επίδραση του FNA. Σημειώνεται ότι η αναστολή στην πρόσληψη

φωσφόρου βρέθηκε να είναι αναστρέψιμη και ο ρυθμός ανάκτησης εξαρτάται από τη συγκέντρωση FNA στην οποία εκτίθεται η βιομάζα (Pijuan et al., 2010b; Zhou et al., 2008a).

Παράλληλα, οι Coma et al. (2012) αναφέρουν αναστολή στην ανοξική πρόσληψη φωσφόρου για συγκεντρώσεις νιτρικών μεγαλύτερες από 5 mg/L, ενώ οι Zhou et al. (2012) παρατήρησαν ότι η ανοξική πρόσληψη φωσφόρου ήταν πιο ευαίσθητη από την αερόβια, γεγονός που συμφωνούν οι Meinhold et al. (1999), οι οποίοι αναφέρουν ότι η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου που δεν ήρθε σε επαφή ποτέ με νιτρικά ή νιτρώδη είναι λιγότερο ευαίσθητη στο FNA από την ανοξική πρόσληψη φωσφόρου. Επίσης, οι Zhou et al. (2012) αναφέρουν πως η συσσώρευση FNA προκάλεσε πρόβλημα στην απονιτροποίηση και στους ρυθμούς πρόσληψης οξυγόνου και φωσφόρου, αν και ο ρυθμός αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου ήταν υψηλότερος από τον αντίστοιχο σε ανοξικές συνθήκες, πιθανότατα το οξυγόνο εξακολουθεί να είναι ο προτιμώμενος δέκτης ηλεκτρονίων λόγω του υψηλότερου δυναμικού ενεργείας του προτού το FNA αναστέλλει πλήρως τη ροή των ηλεκτρονίων στο οξυγόνο. Η ανάπτυξη των PAOs μειώθηκε απότομα με τη συγκέντρωση FNA και σταμάτησε εντελώς στη συγκέντρωση FNA των 0.01 mg HNO₂ – N / L, ενώ ο ρυθμός οξειδωσης των PHA επηρεάστηκε δυσμενώς συγκέντρωση ίση με 0.26 μg HNO₂ – N/L.

Οι Zeng et al. (2014) διερεύνησαν τον αντίκτυπο των νιτρικών στη συμπεριφορά των πολυφωσφορικών βακτηριδίων και παρατήρησαν αναχαίτιση της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου και της οξειδωσης των PHA όταν η συγκέντρωση του FNA ήταν ίση με 0.47 x 10⁻³ mg HNO₂-N/L, ενώ η απομάκρυνση του φωσφόρου με τα νιτρώδη ως δέκτη ηλεκτρονίων αναστάληκε για συγκέντρωση FNA ίση με 2.25 x 10⁻³ mg HNO₂-N/L. Μόλις το FNA εξαντλήθηκε, η αναστολή σταμάτησε. Επίσης, μελέτησαν την επίδραση του FNA σε συστήματα με διαφορετική σύσταση λυμάτων και τρόπο λειτουργίας, καταλήγοντας ότι οι συγκεντρώσεις αναστολής διέφεραν σε κάθε σύστημα και κάθε ενεργός ιλύ είχε διαφορετική ανοχή στα νιτρώδη.

Οι Pijuan et al. (2010b) αναφέρουν 50% αναχαίτιση της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου σε μια καλλιέργεια εμπλουτισμένη με *Candidatus Accumulibacter phosphatis* για μια

συγκέντρωση 0.5×10^{-3} mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$, γεγονός που συμφωνεί με την παρατήρηση των Saito et al. (2004), όπου παρατηρήθηκε σημαντική αναστολή στην αερόβια πρόσληψη φωσφόρου για την ίδια συγκέντρωση. Επιπλέον, οι Pijuan et al. (2010b) απέδειξαν ότι τόσο οι αναβολικές διεργασίες, δηλαδή η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, η πρόσληψη φωσφόρου και η παραγωγή γλυκογόνου, όσο και καταβολικές διεργασίες, δηλαδή η οξείδωση των PHA, επηρεάστηκαν αρνητικά από το FNA. Η πλήρης αναχαίτιση συνέβη σε συγκεντρώσεις FNA περίπου 6.0×10^{-3} mg $\text{HNO}_2\text{-N}$. Αυτές οι συγκεντρώσεις θα μπορούσαν να βρεθούν σε μια ΕΕΛ που χρησιμοποιεί την οδό της νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης για την αφαίρεση.

Σε μια μελέτη για την επίδραση του FNA στα DPAOs, οι (Zhou et al., 2007) εξακρίβωσαν ότι ο πραγματικός αναστολέας των μικροοργανισμών ήταν το FNA και όχι τα νιτρώδη και διαπίστωσαν ότι ο ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου μειωνόταν με την αύξηση της συγκέντρωσης του FNA, η αναστολή της ανοξικής πρόσληψης του φωσφόρου ξεκίνησε σε χαμηλά επίπεδα (<0.002 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$), ενώ όταν η συγκέντρωσή του έφτασε τα 0.02 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$, η πρόσληψη παρεμποδίστηκε πλήρως. Επίσης, η απονιτροποίηση που εκτελούν τα DPAOs φάνηκε να αναστέλλεται, με το ρυθμό να μειώνεται κατά 40% όταν η συγκέντρωση του FNA αυξήθηκε από 0.002 σε 0.02 mg $\text{HNO}_2\text{-N/L}$. Η ικανότητα απονιτροποίησης των DPAOs επηρεάστηκε λιγότερο από το FNA σε σύγκριση με την ανοξική πρόσληψη φωσφόρου. Παρόμοια συμπεράσματα προέκυψαν και από άλλους ερευνητές, οι οποίοι συμφωνούν ότι το FNA αναστέλλει τον ανοξικό μεταβολισμό των PAOs και των DPAOs, την απονιτροποίηση των DPAOs και την ανοξική και αερόβια πρόσληψη φωσφόρου (Zhou et al., 2012; Zhou et al., 2011; Zhou et al., 2010b;). Συγκεκριμένα, αναφέρεται ότι η ανασταλτική επίδραση του FNA είναι πολύ πιο ισχυρή στην πρόσληψη φωσφόρου και την παραγωγή γλυκογόνου, απ' ότι στην αποικοδόμηση των PHAs και την απονιτροποίηση (Zhou et al., 2010b). Τα επίπεδα ATP και η μεταφορά ηλεκτρονίων των DPAOs μειώθηκαν απότομα με την αύξηση του FNA. Η παρατήρηση ότι το FNA επηρεάζει περισσότερο τις διεργασίες κατανάλωσης ενέργειας παρά τις διεργασίες παραγωγής ενέργειας έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (Vadivelu et al., 2006b,c).

Επιπλέον, εξετάζοντας την επίδραση του FNA σε διαφορετικά στελέχη των PAOs, ο τύπος II φαίνεται να είναι πιο ανθεκτικός στο FNA από το PAO I. Οι Zeng et al. (2016b) αναφέρουν πλήρες αναστολής στην αερόβια πρόσληψη φωσφόρου όταν η συγκέντρωση του FNA ήταν ίση με 6.85×10^{-3} mg HNO₂-N/L και για pH = 6.5 ήταν, ενώ για pH = 7 η συγκέντρωση πλήρους αναστολής ήταν μικρότερη. Το κυρίαρχο στέλεχος *Accumulibacter* ήταν το IIC, αντιπροσωπεύοντας το 70% του συνολικού *Accumulibacter*. Το στέλεχος IF φάνηκε να είναι πολύ ευαίσθητο στο FNA, ενώ το στέλεχος IID έδειξε την ισχυρότερη ανοχή. Γενικά, το FNA επηρέασε σημαντικά τη κοινότητα του συστήματος και μείωσε την απόδοσή του ως προς την απομάκρυνση φωσφόρου. Αναφορικά με τα PAOs τύπου I, οι Oehmen et al. (2010b) σημειώνουν ότι χρησιμοποιούν οξυγόνο και νιτρικά ως δέκτη ηλεκτρονίων, συνεπώς δεν συμβάλουν στην ταυτόχρονη απομάκρυνση αζώτου και φωσφόρου ανοξικά, αφού η ανάπτυξη τους δεν είναι εφικτή σε συστήματα με υψηλές συγκεντρώσεις νιτρικών.

Οι ανασταλτικοί μηχανισμοί του FNA στα πολυφωσφορικά βακτήρια δεν είναι απολύτως καθορισμένοι. Σε μια ανασκόπηση που έκανα οι Zhou et al. (2010b), αναφέρουν ότι μια πιθανή εξήγηση είναι η αναστολή του GADP λόγω του FNA, το οποίο είναι απαραίτητο για την αναγέννηση του γλυκογόνου μέσω της γλυκονεογένεση, δηλαδή της αντίστροφης οδού της γλυκόλυσης. Άρα η αναστολή του GADP επηρεάζει τόσο τη γλυκονεογένεση, όσο και τη γλυκόλυση. Εκτός από το GADP, είναι πιθανόν να επηρεάζεται το CoA-SH, ένα βασικό ενδιάμεσο προϊόν από τον κύκλο τρικαρβοξυλικού οξέος (TCA). Αν ο κύκλος TCA διακοπεί λόγω αλληλεπίδρασης FNA και CoA-SH η παραγωγή ATP από τα PAOs θα μειωθεί περαιτέρω χάνοντας την παραγωγή NADH, η οποία θα οδηγούσε σε σύνθεση ATP μέσω οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Zhou et al., 2010b; Hinze et al., 1985; O'Leary et al., 1976). Επίσης, έχει αναφερθεί να αναστέλλει το ένζυμο PPK, το οποίο σχετίζεται άμεσα με την απομάκρυνση φωσφόρου μεταφέροντας φώσφορο στις πολυφωσφορικές αλυσίδες (Zhou et al., 2007).

Ένας άλλος υποθετικός ανασταλτικός μηχανισμός βασίζεται στη διακοπή της παραγωγής ενέργειας. Το FNA είναι σε θέση να διασχίσει τη κυτταρική μεμβράνη και να μεταφέρει πρωτόνια και από τις δύο πλευρές χωρίς να παράγει ενέργεια, επηρεάζοντας, έτσι,

διάφορες αντιδράσεις που καταλύονται από την ΑΤΡάση και, τελικά, αναστέλλεται η σύνθεση ΑΤΡ (Sijbesma et al., 1996; Yarbrough et al., 1980). Επίσης, το FNA μπορεί να διαχέεται παθητικά κατά μήκος της μεμβράνης του κυττάρου, και ως συνέπεια του ουδέτερου ενδοκυτταρικού pH, παγιδεύεται μέσα στο κύτταρο στην ανιονική του μορφή. Για να το αντιμετωπίσει αυτό, το κύτταρο θα αντλήσει πρωτόνια, διαδικασία που απαιτεί ενέργεια, οδηγώντας στην μείωση της διαθέσιμης ενέργειας για ανάπτυξη (Zhou et al., 2010b; Brul et al., 1999; Hinze et al., 1985).

Οι αναφορές στη βιβλιογραφία σχετικά με την ελάχιστη συγκέντρωση που προκαλεί προβλήματα στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου ποικίλουν. Σύμφωνα με τους Freitas et al. (2009) η πρόσληψη φωσφόρου επηρεάστηκε σε συγκέντρωση FNA τόσο χαμηλή όσο 0.05×10^{-3} mg HNO₂-N / L (η οποία αντιστοιχεί περίπου σε συγκέντρωση νιτρωδών 0.22 mgN/ L σε pH 7), ενώ όλοι οι ανοξικοί μεταβολισμοί παρεμποδίστηκαν σοβαρά σε συγκέντρωση FNA ίση με 10.0×10^{-3} mg HNO₂-N / L. Οι Saito et al. (2004) παρατήρησαν αναστολή στην ανοξική πρόσληψη φωσφόρου κατά 35% όταν η συγκέντρωση νιτρωδών ήταν 12 mgN/L και οι Meinhold et al. (1999) αναφέρουν 100% αναστολή για συγκέντρωση ίση με 8 mgN/L. Οι Pijuan et al. (2010a) σημειώνουν ότι μια συγκέντρωση νιτρωδών 50 mgN/L μπορεί να επηρεάσει αρνητικά όλες τις βασικές διαδικασίες των DPAOs. Από την άλλη, οι Hu et al. (2003) αναφέρουν συγκέντρωση νιτρωδών 115 mgN/L, η οποία δεν ανέστειλε την πρόσληψη φωσφόρου, ενώ άλλες μελέτες ανέφεραν ότι η πρόσληψη ανοξικού φωσφόρου συνέχισε να συμβαίνει σε συγκέντρωση 40 mgN/L (Zhou et al., 2008b; Ahn et al., 2001).

Όσον αφορά τον ανταγωνισμό μεταξύ GAOs και PAOs, το FNA φαίνεται να παρέχει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα GAOs (Zheng et al., 2013b; Pijuan et al., 2010b). Αν και το FNA έχει αποδειχθεί να επηρεάζει την απόδοση των GAOs (Ye et al., 2010), η ανασταλτική του επίδραση είναι μικρότερη σε σχέση με εκείνη στα PAOs, ιδίως σε σχέση με το ρυθμό σύνθεσης γλυκογόνου στις αναερόβιες συνθήκες (Pijuan et al., 2010b), προκαλώντας ταχύτερη εξάντληση των PAOs και δυσχεραίνοντας περισσότερο το μεταβολισμό τους (Ye et al., 2013). Άρα, θεωρητικά, θα η παρουσία του FNA θα μπορούσε να δώσει ανταγωνιστικό

πλεονέκτημα στα GAOs με συνεπαγόμενη αποτυχία στην απομάκρυνση του φωσφόρου (Pijuan et al., 2010b). Από την άλλη, οι Ye et al. (2010) αναφέρουν αναχαίτιση στις αναβολικές και καταβολικές διεργασίες των GAOs λόγω των νιτρωδών. Παρατηρήθηκε 50% αναστολή στην ανάπτυξη των GAOs για συγκέντρωση FNA 1.5×10^{-3} mg HNO₂-N/L, ενώ σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, τόσο η αερόβια οξειδωση των PHA, όσο και η παραγωγή γλυκογόνου μειώθηκαν.

2.6 Αντιδραστήρας εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας (SBR)

Οι αντιδραστήρες εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας (Sequencing Batch Reactor - SBR) χρησιμοποιούνται για την επεξεργασία λυμάτων. Αποτελούν ένα τροποποιημένο σύστημα ενεργού ιλύος, το οποίο μπορεί να απομακρύνει μεγάλο φορτίο άνθρακα, θρεπτικά συστατικά και τοξικές ουσίες (Mahvi et al., 2008). Εφαρμόζονται ευρέως ως ερευνητικό εργαλείο σε εργαστηριακή κλίμακα, ενώ έχει αποδειχθεί ότι είναι μια βιώσιμη εναλλακτική λύση για συστήματα συνεχούς ροής για την επεξεργασία τόσο οικιακών, όσο και βιομηχανικών λυμάτων (Serralta et al., 2006). Αρχικά, η τεχνολογία προοριζόταν για μικρές κοινότητες και βιομηχανικά απόβλητα υψηλής φόρτισης, αλλά πρόσφατα υπήρξε εκτεταμένη εφαρμογή και σε αραιά λύματα (Singh et al., 2011). Αποτελεί ένα απλό σύστημα, με ικανότητα να ανταποκρίνεται πολύ καλά στις μεγάλες διακυμάνσεις παροχών και ρυπαντικών φορτίων (Ανδρεαδάκης, 2015).

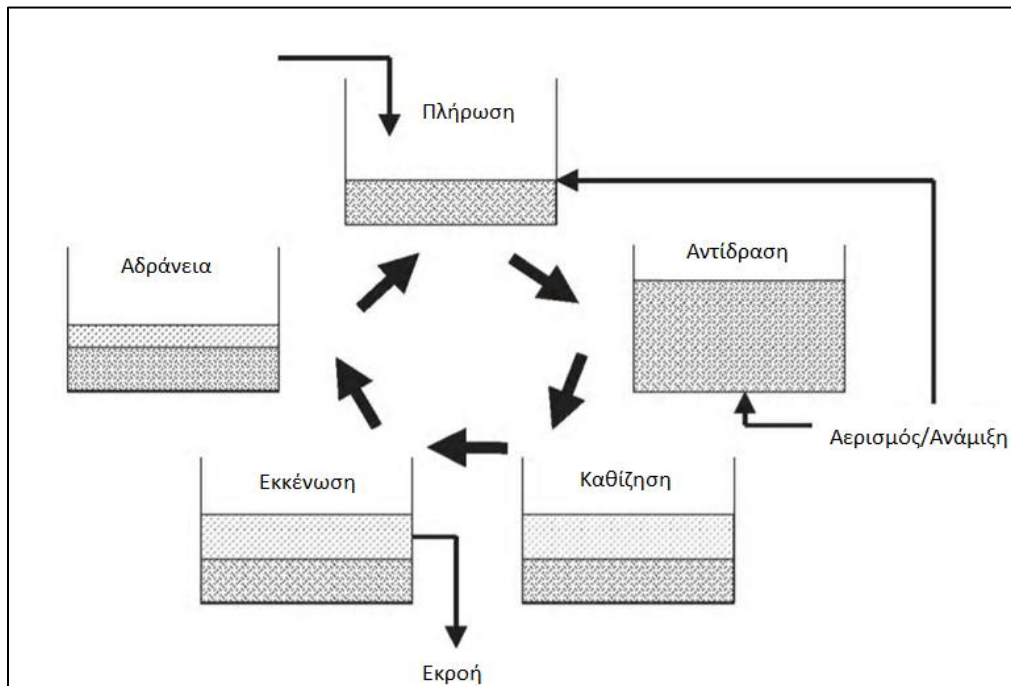
Πρόκειται για έναν μόνο αντιδραστήρα στον οποίο λαμβάνουν χώρα όλες οι διεργασίες και οι τεχνολογίες επεξεργασίας των λυμάτων σε μια επαναλαμβανόμενη χρονική αλληλουχία. Ο SBR λαμβάνει το ρόλο και του βιολογικού αντιδραστήρα και της δεξαμενής καθίζησης. Ενώ σε ένα κλασσικό σύστημα οι διεργασίες χωρίζονται χωρικά, δηλαδή καθεμία πραγματοποιείται σε διαφορετικό αντιδραστήρα/δεξαμενή, στον SBR γίνονται όλα σε ένα κοινό αντιδραστήρα όπου ο διαχωρισμός των φάσεων γίνεται χρονικά (Tsuneda et al., 2006).

Η εφαρμογή του εξοικονομεί περισσότερο από 60% λειτουργικού κόστους σε σχέση με τα συμβατικά συστήματα ενεργού ιλύος. Επιπλέον, οι αντιδραστήρες SBR σημειώνουν ψηλή απόδοση στη ποιότητα εκροής, με λιγότερο απαιτούμενο χρόνο αερισμού. Έχει παρατηρηθεί συγκέντρωση αιωρούμενων στερεών στην έξοδο μικρότερη των 10mg/L. Παράλληλα, μπορούν να επιτύχουν μέχρι και 90% απομάκρυνση BOD, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό στα συμβατικά συστήματα κυμαίνεται συνήθως στο 60-65% (Singh et al., 2011). Η καθίζηση της ιλύος είναι καλή έως πολύ καλή, σημειώνοντας χαμηλές τιμές του δείκτη SVI (<80 ml/g) (Ανδρεαδάκης, 2015). Όσον αφορά την απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου, πιθανώς να φτάσουν το 70% και 75%, αντίστοιχα. Άλλα πλεονεκτήματά του αποτελούν η ευκολία στη ρύθμιση και στην αλλαγή των χαρακτηριστικών του, καθώς ρυθμίζεται χρονικά και όχι χωρικά, η εύκολη επέκτασή του, το μικρό ενεργειακό αποτύπωμα του και το γεγονός ότι απαιτείται μόνο ένας αντιδραστήρας για όλες τις φάσεις (Mahvi et al., 2008).

Η λειτουργία του έχει κυκλική φύση. Κάθε κύκλος αποτελείται από διάφορες φάσεις και έχει συγκεκριμένη διάρκεια. Συνήθως, αποτελείται από φάση πλήρωσης, φάση αντίδρασης, φάση καθίζησης και φάση εκκένωσης (Gustavsson et al., 2010). Σημειώνεται ότι ενδέχεται να χρησιμοποιηθούν περισσότεροι από έναν αντιδραστήρα, οι οποίοι λειτουργούν παράλληλα.

Στη φάση πλήρωσης ο SBR τροφοδοτείται με λύματα, τα οποία έρχονται σε επαφή με την ενεργοποιημένη λάσπη που παρέμεινε από τον προηγούμενο κύκλο. Μετά την πλήρωση, ακολουθεί η φάση αντίδρασης, όπου σε συνθήκες πλήρους μίξης υλοποιούνται οι διάφορες βιολογικές διεργασίες. Οι αντιδράσεις έχουν ξεκινήσει από την διάρκεια της φάσης πλήρωσης. Ανάλογα με τις επιθυμητές συνθήκες για την απομάκρυνση των εκάστοτε ουσιών (άνθρακας, άζωτο, φώσφορο), εναλλάσσονται αναερόβιες, αερόβιες και ανοξικές συνθήκες, ενώ ο χρόνος ανάμιξης και αερισμού ρυθμίζεται βάση του επιθυμητού βαθμού επεξεργασίας. Ουσιαστικά, η δεξαμενή εργάζεται ως αντιδραστήρας ενεργού ιλύος (Ανδρεαδάκης, 2015). Στη συνέχεια, ακολουθεί η καθίζηση, κατά την οποία διακόπτεται η ανάδευση και τα αιωρούμενα στερεά του ανάμικτου υγρού καθιζάνουν στον πυθμένα σε συνθήκες ηρεμίας, δημιουργώντας ένα διαυγές υγρό. Το υπερκείμενο υγρό απομακρύνεται

στη φάση εκκένωσης μέσω άντλησής του από το πάνω μέρος του αντιδραστήρα, ενώ, παράλληλα, απομακρύνεται από το σύστημα περίσσεια ιλύς. Σημειώνεται πως είναι σημαντικό να μην διαφεύγουν αιωρούμενα στερεά με το υπερκείμενο υγρό και να αποφεύγεται επαναιώρηση της ιλύος. Τέλος, ο αντιδραστήρας παραμένει αδρανής στη φάση αδράνειας (idle time), μέχρι να αρχίσει η φάση πλήρωσης του επόμενου, νέου κύκλου. Ο συνολικός χρόνος που διαρκεί ένας κύκλος είναι το άθροισμα αυτών των πέντε φάσεων (Artan et al., 2001). Στην ακόλουθη εικόνα αναπαριστάται η λειτουργία ενός κύκλου του SBR.



Σχήμα 2.10: Κύκλος λειτουργίας αντιδραστήρα SBR (Mahvi et al., 2008)

3 Πειραματική Διαδικασία

3.1 Εισαγωγή

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηρίων (PAOs). Στο πλαίσιο αυτό, χρησιμοποιήθηκε ένας αντιδραστήρας εναλλασσόμενης λειτουργίας (Sequencing Batch Reactor-SBR), ο οποίος τροφοδοτήθηκε με ανάμικτο υγρό από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας. Η πειραματική διάταξη έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του ΕΜΠ και λειτούργησε από τον Σεπτέμβριο του 2020 έως τον Απρίλιο του 2021.

Κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας λάμβαναν χώρα καθημερινοί έλεγχοι του συστήματος και υλοποιούνταν πειράματα ασυνεχούς ροής (batch), όπου πραγματοποιούνταν μετρήσεις συγκεκριμένων παραμέτρων. Οι διαδικασίες που εφαρμόστηκαν ακολουθούσε τη μεθοδολογία των Federation και Association (2005).

Στο παρόν κεφάλαιο, γίνεται περιγραφή των αναλυτικών μεθόδων που εφαρμόστηκαν, της λειτουργίας του συστήματος και των batch πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν.

3.2 Αναλυτικές μέθοδοι

3.2.1 Μέτρηση ολικών και πτητικών στερεών (TSS – VSS)

Ο προσδιορισμός των ολικών αιωρούμενων στερεών (Total Suspended Solids – TSS) και πτητικών στερεών (Volatile Suspended Solids – VSS) γίνεται σύμφωνα με τη μέθοδο 2540 D του Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition, 2012. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται στα νερά και τα επεξεργασμένα ή ανεπεξέργαστα λύματα.

Οι βασικές τεχνικές προσδιορισμού των στερεών είναι ο διαχωρισμός με διύλιση, εξάτμιση, καύση και ζύγιση. Αρχικά, μέσω της διύλισης, γίνεται διαχωρισμός μεταξύ των αιωρούμενων, μη διηθήσιμων στερεών και των διαλυμένων, διηθήσιμων στερεών. Για την εφαρμογή της διύλισης χρησιμοποιούνται στρωματικά φίλτρα GF/C της Whatman με μέγεθος πόρων 1.2 μm. Τα φίλτρα αυτά συγκρατούν τα σωματίδια κατά μήκος του στρώματος τους, παγιδεύοντάς τα μέσα σε ένα πλέγμα από ανόργανες ίνες. Το φίλτρο ζυγίζεται σε ζυγό ακριβείας πριν και μετά τη διήθηση. Σημειώνεται ότι πριν τη διήθηση, το δείγμα αναδεύεται καλά για να ομογενοποιηθεί και το φίλτρο τοποθετείται σε φούρνο των 550°C για περίπου 20 λεπτά, για να εξατμιστεί πλήρως η υγρασία του.

Στη συνέχεια, ακολουθεί το στάδιο της εξάτμισης, όπου γίνεται διαχωρισμός του νερού από τα στερεά. Το φίλτρο τοποθετείται στο πυριαντήριο (Σχήμα 3.1) για 1 ώρα στους 103-105°C για να γίνει η ξήρανσή του και να φύγει η υγρασία.



Σχήμα 3.1: Φούρνος 103-105°C

Τέλος, εφαρμόζεται το στάδιο της καύσης, ώστε να διαχωριστούν τα οργανικά και τα ανόργανα στερεά. Τα οργανικά στερεά καταστρέφονται στους 550°C, έτσι, το φίλτρο τοποθετείται στο φούρνο (Σχήμα 3.2) σε αυτή τη θερμοκρασία για περίπου 15 λεπτά.



Σχήμα 3.2: Φούρνος 550°C

Μετά από κάθε στάδιο, γίνεται ζύγιση του φίλτρου στο ζυγό ακριβείας, αφού πρώτα έχει τοποθετηθεί σε αφυγραντήρα για μερικά λεπτά, ώστε να επανέλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (Σχήμα 3.3).



Σχήμα 3.3: Ζυγός ακριβείας (αριστερά) και Αφυγραντήρας (δεξιά)

Ο όγκος του δείγματος που διηθείται εξαρτάται από την αναμενόμενη συγκέντρωση στερεών και την ποιότητα του υγρού. Επιλέχθηκε όγκος ίσος με 5ml.

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ολικών αιωρούμενων στερεών (TSS) γίνεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{TSS} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{M_2 - M_1}{V_{\text{δείγματος}}} * 10^6$$

όπου

M_1 : Μάζα καθαρού φίλτρου (g)

M_2 : Μάζα φίλτρου μετά τη ξήρανση στους 103°C (g)

$V_{\text{δείγματος}}$: Όγκος δείγματος (mL)

Αντίστοιχα, ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των πτητικών αιωρούμενων στερεών (VSS) γίνεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{VSS} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{M_2 - M_3}{V_{\text{δείγματος}}} * 10^6$$

όπου

M_2 : Μάζα φίλτρου μετά τη ξήρανση στους 103°C (g)

M_3 : Μάζα φίλτρου μετά την καύση στους 550°C (g)

$V_{\text{δείγματος}}$: Όγκος δείγματος (mL)

3.2.2 Μέτρηση διαλυτού χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου (COD)

Η μέτρηση του διαλυτού χημικώς απαιτούμενου οξυγόνου (Chemical Oxygen Demand – COD) γίνεται σύμφωνα με τη μέθοδο 5220 D “Closed Reflux Colorimetric Method” του Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition, 2012. Πεδίο εφαρμογής αποτελούν τα νερά, τα επεξεργασμένα ή ανεπεξέργαστα λύματα και το ανάμικτο υγρό από ΕΕΛ.

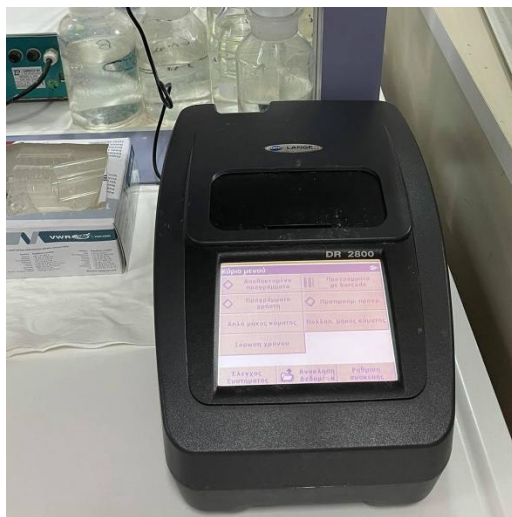
Το COD ορίζεται ως το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο για την οξείδωση οργανικών και ανόργανων ενώσεων ενός δείγματος. Ουσιαστικά αποτελεί την ποσότητα του διχρωμικού καλίου ($Kr_2CR_2O_7$) που καταναλώνεται κατά τη οξείδωση αυτή. Μέσω της μέτρησής του προσδιορίζεται το βιοδιασπάσιμο ή μη βιοδιασπάσιμο οργανικό φορτίο των λυμάτων.

Για την μέτρηση του COD απαιτείται έντονα όξινο περιβάλλον (50% H_2SO_4). Γίνεται χώνευση ενός δείγματος με διάλυμα ισχυρού οξέος και ποσότητα διχρωμικού καλίου σε θερμοκρασία $150^{\circ}C$ για χρονικό διάστημα 2 ωρών, ενώ προστίθεται Ag_2SO_4 ως καταλύτης για την αποτελεσματικότερη οξείδωση ορισμένων οργανικών ενώσεων, όπως τα πτητικά οργανικά οξέα που, λόγω της πτητικότητάς τους, δεν οξειδώνονται τόσο αποτελεσματικά. Οι οργανικές ενώσεις σε αυτές τις συνθήκες οξειδώνονται σε CO_2 , H_2O , NH_4^{+1} , PO_4^{-3} , SO_4^{-2} και το διχρωμικό ανιόν Cr^{+6} ανάγεται σε χρωμικό Cr^{+3} . Οι δύο αυτές καταστάσεις χαρακτηρίζονται από πορτοκαλί και πράσινο χρώμα, αντίστοιχα, και απορροφούνται σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Το Cr^{+6} απορροφάται στα 400 nm και το Cr^{+3} στα 600 nm.

Κατά την εφαρμογή της μεθόδου, χρησιμοποιούνται έτοιμα αντιδραστήρια της εταιρείας HACH. Τα αντιδραστήρια αυτά περιέχονται σε φιαλίδια ανάλογα με το εύρος μέτρησης. Για εύρος μέτρησης 15-150 mg/L χρησιμοποιούνται φιαλίδια HACH LCK314 και για εύρος μέτρησης 150-1000 mg/L χρησιμοποιούνται φιαλίδια HACH LCK114. Η χώνευση γίνεται σε συσκευή χώνευσης (Σχήμα 3.4) που παρέχει η εταιρεία και η μέτρηση του μήκους κύματος γίνεται σε φασματοφωτόμετρο (Σχήμα 3.5) ορατού φωτός τύπου HACH DR2800.



Σχήμα 3.4: Συσκευή χώνευσης φιαλιδίων



Σχήμα 3.5: Φασματοφωτόμετρο ορατού φωτός ορατού φωτός τύπου HACH DR2800

Για τον προσδιορισμό του διαλυτού COD το δείγμα διηθείται σε μεμβράνη Whatman με μέγεθος πόρων 0.45 μm και αραιώνεται ώστε η συγκέντρωση του COD να είναι εντός των κατάλληλων ορίων. Στη συνέχεια, 2 ml διηθημένου δείγματος προστίθεται στα φιαλίδια, τα οποία τοποθετούνται στη συσκευή χώνευσης για δύο ώρες. Με το πέρας της χώνευσης και, αφού έχουν αποκτήσει θερμοκρασία περιβάλλοντος, τοποθετούνται στο φασματοφωτόμετρο και προσδιορίζεται η συγκέντρωση του διαλυτού COD.

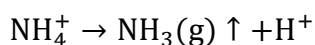
3.2.3 Μέτρηση αμμωνιακού αζώτου (NH₄-N)

Ο προσδιορισμός του αμμωνιακού αζώτου γίνεται με τη μέθοδο Nessler. Το δείγμα, αφού διηθηθεί σε μεμβράνη Whatman με μέγεθος πόρων 0.45 μm, τοποθετείται σε συσκευή απόσταξης για να απομακρυνθεί το αμμωνιακό άζωτο. Η συσκευή απόσταξης που χρησιμοποιήθηκε είναι τύπου BUCHI 314 (Σχήμα 3.6).

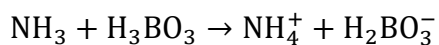


Σχήμα 3.6: Συσκευή απόσταξης τύπου BUCHI 314

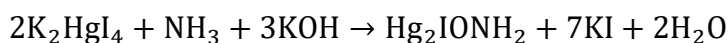
Η απόσταξη της αμμωνίας γίνεται με την διοχέτευση υδρατμών στο δείγμα σε αλκαλικές συνθήκες, ώστε η πλειονότητα του αμμωνιακού αζώτου να βρίσκεται με τη μορφή αμμωνίας που παρουσιάζει μικρή διαλυτότητα στο νερό. Κάτω από συνθήκες βρασμού του δείγματος η αμμωνία ελευθερώνεται σύμφωνα με την πιο κάτω αντίδραση:



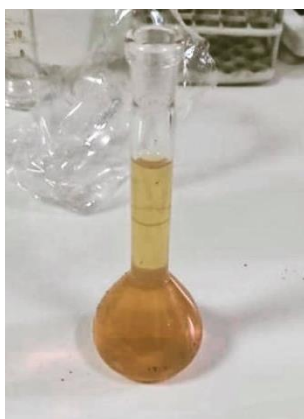
Η παραγωγή αέριας αμμωνίας έχει ως συνέπεια την παραγωγή ιόντων υδρογόνου και, άρα, τη μείωση του pH. Οι συνθήκες τείνουν να γίνουν οξικές και να οδηγήσουν στο τερματισμό της πιο πάνω αντίδρασης. Για να αποφευχθεί αυτό και να διατηρηθεί το pH σε τιμές περίπου 9.5, προστίθεται διάλυμα καυστικού νατρίου NaOH κανονικότητας 6N. Η συλλογή των υδρατμών και της αέριας αμμωνίας γίνεται σε κωνική φιάλη με 10mL διαλύματος βορικού οξέος, το οποίο αντιδρά με την με την αμμωνία, με αποτέλεσμα να παράγεται αμμώνιο, όπως φαίνεται από την ακόλουθη αντίδραση:



Με την ολοκλήρωση της απόσταξης, το αποσταγμένο διάλυμα οδηγείται σε ογκομετρική φιάλη των 50 mL, και, αφού αραιωθεί κατάλληλα, προστίθενται σε αυτό 2mL από το αντιδραστήριο Nessler. Το αντιδραστήριο Nessler αποτελεί μείγμα ιωδιούχου καλίου και ιωδιούχου υδραργύρου, τα οποία αντιδρούν με το αμμωνιακό άζωτο σε αλκαλικές συνθήκες και παράγουν ένα κολλοειδές διάλυμα καφεκίτρινου χρώματος (Σχήμα 3.7), σύμφωνα με την πιο κάτω αντίδραση:



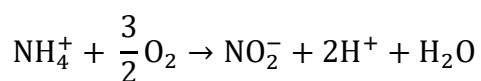
Η αντίδραση του δείγματος με το αντιδραστήριο Nessler χρειάζεται περίπου 10 λεπτά. Αφού ολοκληρωθεί, προσδιορίζεται η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου στα 425 nm, καθώς η απόχρωση του διαλύματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της συγκέντρωσης αμμωνίας.

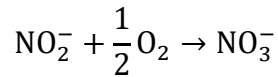


Σχήμα 3.7: Μέτρηση αμμωνιακού αζώτου

3.2.4 Μέτρηση νιτρικού αζώτου ($\text{NO}_3\text{-N}$) και νιτρώδους αζώτου ($\text{NO}_2\text{-N}$)

Το νιτρικό άζωτο ($\text{NO}_3\text{-N}$) και το νιτρώδες άζωτο ($\text{NO}_2\text{-N}$) αποτελούν οξειδωμένες μορφές αζώτου, οι οποίες βρίσκονται διαλυμένες στα λύματα. Παράγονται με την αερόβια οξείδωση της αμμωνίας σύμφωνα με την ακόλουθη αντίδραση:



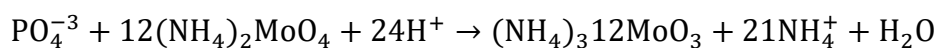


Ο προσδιορισμός του νιτρικού αζώτου γίνεται με τη μέθοδο LCK339 της HACK, η οποία βασίζεται στην αντίδραση των νιτρικών ανιόντων με 2,6-διμεθυλφαινόλη προς σχηματισμό 4-νίτρο-2,6-διμεθυλφαινόλη, σε διάλυμα που περιέχει θειικό και φωσφορικό οξύ. Προστίθεται 1 ml διηθημένου και κατάλληλα αραιωμένου δείγματος σε φιαλίδιο με αντιδραστήριο τύπου LANGE LCK 339 και 0.2 ml από κατάλληλο αντιδραστήριο που παρέχεται μαζί με το φιαλίδιο. Αφού περάσουν 15 λεπτά, η συγκέντρωση των νιτρικών μετράται με τη βοήθεια του φασματοφωτόμετρου. Η μέτρηση γίνεται σε εύρος 0.23 - 13.50 mg NO₃-N /L και σε μήκος κύματος 345 nm.

Όσον αφορά τον προσδιορισμό των νιτρωδών, γίνεται με τη μέθοδο 5807 Nitrite της HACK, η οποία βασίζεται στην αντίδραση των νιτρωδών με σουλφανλικό οξύ προς σχηματισμό ενός διαζωτωμένου σουλφανλικού άλατος, το οποίο αντιδρώντας με χρωμοτροπικό οξύ παράγει ροζ χρώμα. Όσο πιο ροζ γίνεται το διάλυμα, τόσο πιο μεγάλη είναι η συγκέντρωση των νιτρωδών. Χρησιμοποιήθηκαν αντιδραστήρια Nitriver 3 της HACK σε διηθημένο δείγμα και η αντίδραση είχε χρονική διάρκεια 20 λεπτών. Με το πέρας των 20 λεπτών, η μέτρηση γίνεται φασματοφωτομετρικά σε εύρος 0.002 – 0.300 mg NO₂-N /L και μήκος κύματος 507 nm.

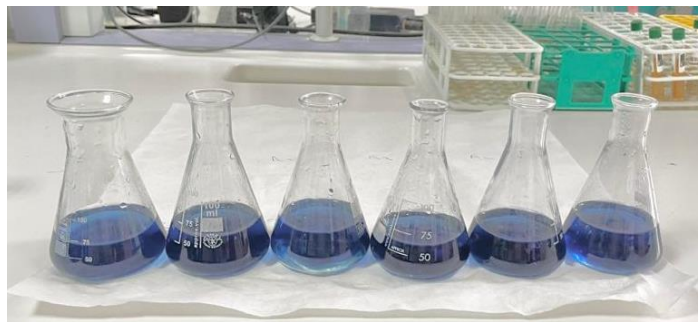
3.2.5 Μέτρηση ορθοφωσφορικών

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης των ορθοφωσφορικών γίνεται με τη μέθοδο του ασκορβικού οξέος. Χρησιμοποιείται μείγμα μολυβδαινικού αμμώνιου ((NH₄)₆MoO₂₄) και τρυγικού κάλιου-αντιμόνιου (K(Sb)C₄H₄O₆), το οποίο αντιδρά με τα ορθοφωσφορικά σε όξινες συνθήκες, δημιουργώντας φωσφομολυβδαινικό οξύ (ammonium phosphomolybdate) σύμφωνα με τον ακόλουθη αντίδραση:



Στη συνέχεια, παρουσία ασκορβικού οξέος το μολυβδαίνιο που περιέχεται στο ammonium phosphomolybdate, ανάγεται σε ελεύθερο μολυβδαίνιο, δίνοντας μια έντονη μπλε απόχρωση στο διάλυμα. Η απόχρωση του διαλύματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης φωσφόρου για τιμές φωσφόρου 0.1 – 1.0 mgP/l.

Το δείγμα, αφού διηθηθεί και αραιωθεί κατάλληλα σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml, βάση της αναμενόμενης συγκέντρωσης φωσφόρου, ώστε να βρίσκεται εντός των αντίστοιχων ορίων, μεταγγίζεται σε κωνικές φιάλες. Προστίθεται 8ml από το ανάμικτο αντιδραστήριο (mix), ώστε να γίνει η ζητούμενη αντίδραση (Σχήμα 3.8). Χρειάζονται 10 λεπτά για να γίνει η αντίδραση, μετά το πέρας των οποίων η συγκέντρωση των ορθοφωσφορικών προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά σε μήκος κύματος 890 nm.



Σχήμα 3.8: Μέτρηση ορθοφωσφορικών

3.2.6 Μέτρηση pH, θερμοκρασίας και διαλυμένου οξυγόνου (DO)

Το διαλυμένο οξυγόνο (DO) προσδιορίζεται με το φορητό οξυγονόμετρο οxi 330i της εταιρείας WTW και η θερμοκρασία (T °C) και το pH προσδιορίζονται με το φορητό pHμετρο 3110 της εταιρείας WTW (Σχήμα 3.9).



Σχήμα 3.9: Οξυγονόμετρο οχι 330 (αριστερά) και pHμετρο 3110 (δεξιά)

3.3 Πειραματική διάταξη

3.3.1 Περιγραφή συστήματος

Τα πολυφωσφορικά βακτήρια (PAOs) που μελετήθηκαν αναπτύχθηκαν σε ένα εργαστηριακής κλίμακας αντιδραστήρα εναλλασσόμενων φάσεων λειτουργίας (Sequencing Batch Reactor-SBR). Ο απώτερος στόχος του συστήματος ήταν η επεξεργασία των στραγγιδίων αφυδάτωσης, τα οποία έχουν υψηλή συγκέντρωση αζώτου, μέσω νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης, με παράλληλη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Βάση όσων περιγράφηκαν στην ενότητα (2.4), για την ανάπτυξη των PAOs είναι απαραίτητη η εναλλαγή μεταξύ αναερόβιων – αερόβιων ή αναερόβιων – ανοξικών συνθηκών. Οι συνθήκες αυτές, καθώς και οι λειτουργικές συνθήκες του συστήματος, επηρέασαν τόσο την ανάπτυξη των PAOs, όσο και τη μετέπειτα συντήρησή τους, όπως επίσης και τον εγκλιματισμό τους σε υψηλή φόρτιση νιτρωδών.

Χρησιμοποιήθηκε ένας αντιδραστήρας ορθογωνικής διατομής, κατασκευασμένος από Plexiglas με αποσπώμενο πώμα (Σχήμα 3.10). Ο συνολικός όγκος ήταν 14 λίτρα, με ωφέλιμο

όγκο 10 λίτρων. Εξασφαλίστηκαν συνθήκες πλήρους μίξης με τη βοήθεια ενός μηχανοκίνητου αναδευτήρα, ο οποίος ήταν στηριγμένος σε βάση στήριξης και εισέρχονταν στο σύστημα μέσω οπής στο κέντρο του πώματος του αντιδραστήρα. Το βάθος του αναδευτήρα και η δυναμικότητά του ήταν υπολογισμένα για να αναδεύουν ικανοποιητικά το ανάμικτο υγρό, χωρίς όμως να καταστρέφονται οι βιοκροκίδες. Η εναλλαγή των φάσεων εξασφαλιζόταν με χρονοδιακόπτες, οι οποίοι ήταν συνδεδεμένοι στην παροχή του οξυγόνου για να ξεκινούν και να σταματούν την αερόβια φάση και στον αναδευτήρα του αντιδραστήρα, για να σταματούν τη λειτουργία του στη φάση της καθίζησης. Ο αερισμός του αντιδραστήρα εξασφαλιζόταν με τη χρήση ελαφρόπετρας, η οποία ήταν συνδεδεμένη σε μια αεραντλία μέσω πλαστικών καλωδίων και τοποθετήθηκε στον πυθμένα του αντιδραστήρα. Όσον αφορά τη τροφοδοσία του συστήματος, γινόταν αυτοματοποιημένα μέσω χρονοδιακόπτη, υπεύθυνου να ξεκινά και να σταματά την παροχή της τροφή, η οποία διοχετευόταν μέσω ενός πλαστικού σωλήνα συνδεδεμένου σε μια αντλία, ενώ, από την άλλη, η απομάκρυνση της περίσσειας υλός και της εκροής του συστήματος γινόταν με χειρονακτικό τρόπο μέσω τριών επιστομιών που υπήρχαν στον αντιδραστήρα.



Σχήμα 3.10: Αντιδραστήρας SBR

Ο αντιδραστήρας SBR λειτούργησε από τις 16 Σεπτεμβρίου 2020 μέχρι τις 25 Απριλίου 2021. Η πρώτη περίοδος λειτουργίας ξεκίνησε όταν η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηρίων είχε επιτευχθεί και αφορά το χρονικό διάστημα μεταξύ 4 Νοεμβρίου 2020 μέχρι 17 Ιανουαρίου 2021 και η δεύτερη περίοδος το χρονικό διάστημα μεταξύ 25 Ιανουαρίου 2021 και 25 Απριλίου 2021. Αρχικά, τροφοδοτήθηκε με 5L ανάμικτο υγρό από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας, στα οποία προστέθηκαν 4L νερό και 1L πρωτοβάθμια λύματα, ώστε ο συνολικός ωφέλιμος όγκος του να είναι 10L. Η τροφοδοσία του συστήματος ήταν καθημερινή και γινόταν με στραγγίδια αφυδάτωσης. Επιπλέον, κάθε μέρα γινόταν αφαίρεση της εκροής και απομακρυνόταν η περίσσεια ιλύς.

Τέλος, πραγματοποιούνταν καθημερινές μετρήσεις του pH, της θερμοκρασίας και του διαλυμένου οξυγόνου του συστήματος και έλεγχος του αμμωνιακού αζώτου της εκροής για να εξασφαλίζεται η επιτυχημένη απομάκρυνσή του από το σύστημα.

3.3.2 Λειτουργία συστήματος

Η ημερήσια λειτουργία του συστήματος αποτελείτο από εναλλαγή αναερόβιων – αερόβιων και ανοξικών φάσεων. Κάθε μέρα λάμβαναν χώρα 4 ίδιο κύκλοι λειτουργίας. Το σύστημα λειτουργούσε για 1 ώρα σε αναερόβιες συνθήκες, ακολουθούσαν 2 ώρες αερόβιων συνθηκών και τέλος, 2.5 ώρες ανοξικών συνθηκών. Μετά το πέρας των 4 κύκλων, το σύστημα έμενε σε συνθήκες ηρεμίας για 2 ώρες, ώστε να επιτευχθεί καθίζηση.

Ένας παρατεταμένος αναερόβιος υδραυλικός χρόνος οδηγεί σε δευτερογενή έκλυση φωσφόρου (Carvalho et al., 2014c; Barnard et al., 1998). Γενικά, προτείνεται η αναερόβια φάση να μην ξεπερνά τις 2.5 ώρες (Μαμάης Δ., 2020), ενώ μια διάρκεια από 0.25 ως 1 ώρα έχει φανεί επαρκές για να επιτευχθούν οι απαραίτητες βιολογικές διεργασίες των PAOs (Coats et al., 2011). Επιπλέον, η παρατεταμένη αερόβια φάση επιδρά ευνοϊκά στα GAOs (Carvalho et al., 2014c), γι' αυτό έγινε η επιλογή των 2 ωρών. Τέλος, η χρονική διάρκεια της ανοξικής φάσης ήταν ίση με 2.5 ώρες, ώστε να προλαβαίνει να ολοκληρώνεται η

απονιτροδοποίηση από τα DPAOs και τους κοινούς απονιτροποιητές. Η λογική αυτή βασίστηκε και σε μια αντίστοιχη διπλωματική εργασία, όπου η κατανομή των φάσεων με αυτές τις χρονικές διάρκειες φάνηκε ευνοϊκή για την ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων (Κούκουρα, 2020).

Όταν η καθίζηση ολοκληρωνόταν, γινόταν απομάκρυνση της περίσσειας ιλύος και της εκροής, για να γίνει κατάλληλη ρύθμιση του χρόνου παραμονής (θ_c) και του υδραυλικού χρόνου παραμονής (θ), αντίστοιχα. Με την αφαίρεση των 5L της εκροής και την πρόσθεση 5L νερού, ο υδραυλικός χρόνος παραμονής, υπολογιζόταν ίσος με 2 ημέρες βάση του ακόλουθου τύπου (Ανδρεαδάκης, 2015):

$$\theta = \frac{V}{Q}$$

Το θ_c είχε επιλεγεί ίσο με 10 ημέρες για την ανάπτυξη των PAOs και των AOBs. Η ρύθμισή του γινόταν με την απομάκρυνση κατάλληλης ποσότητας ανάμικτου υγρού μέσω της αφαίρεσης της περίσσειας ιλύος, ώστε να απομακρύνεται 10% της βιομάζας καθημερινά, λαμβάνοντας υπόψη την εκάστοτε συγκέντρωση των πτητικών στερεών στο σύστημα. Σημειώνεται ότι η συγκέντρωση αυτή κυμαινόταν από 1.64 έως 4.66 gVSS/L/d.

Μετά την αφαίρεση της εκροής, το σύστημα συμπληρώνεται με 1L πρωτοβάθμιων λυμάτων προερχόμενων από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας, ώστε να πάρουν οι μικροοργανισμοί τα απαραίτητα ιχνοστοιχεία και θρεπτικά συστατικά για να αναπτυχθούν, και προστίθεται κατάλληλη ποσότητα νερού βρύσης μέχρι ο ωφέλιμος όγκος να φτάσει τα 10L. Επιπλέον, προστίθεται φώσφορος απευθείας στο ανάμεικτο υγρό πριν την έναρξη της αναερόβιας φάση, για να ευνοηθεί ο αναερόβιος μεταβολισμός των PAOs.

Η καθημερινή ρουτίνα του συστήματος περιλάμβανε έλεγχο της θερμοκρασίας, του pH, του διαλυμένου οξυγόνου και της συγκέντρωσης του αμμωνιακού αζώτου στην εκροή, για να εξακριβώνεται η ορθή λειτουργία του ως προς την απομάκρυνση της αμμωνίας και να ρυθμίζεται το φορτίο αζώτου της τροφής. Επιπλέον, ο έλεγχος ότι το διαλυμένο οξυγόνο

είχε σημειώσει συγκέντρωση μεγαλύτερη των 3 mg/L μισή ώρα μετά την έναρξη της αερόβιας φάσης, εξασφάλιζε την επάρκειά του καθ' όλη τη διάρκεια της φάσης.

Η επιλογή της απομάκρυνσης του αζώτου μέσω της βιολογικής οδού της νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης έγινε για να δοθεί ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs, καθώς οι ανταγωνιστές τους, τα GAOs, δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Στον πιο κάτω πίνακα των Oehmen et al. (2010a), φαίνεται η σύγκριση των PAOs και των GAOs ως προς τον αποδέκτη ηλεκτρονίων και την πηγή τροφής.

Πίνακας 3.1: Σύγκριση PAOs και GAOs ως προς τον αποδέκτη ηλεκτρονίων και την πηγή τροφής (Oehmen et al., 2010a)

Μικροοργανισμός	Προτιμώμενο VFA	Αποδέκτης ηλεκτρονίων απονιτρωδοποίηση	
		NO ₃	NO ₂
Candidatus Accumulibacter Phosphatis I	Οξικό και προπιονικό οξύ	✓	✓
Candidatus Accumulibacter Phosphatis II	Προπιονικό οξύ	x	✓
Candidatus Competibacter Phosphatis <i>Στελέχη 1,4,5</i>		✓	x
<i>Στελέχη 3,7</i>	Οξικό οξύ	x	x
<i>Στελέχη 6</i>		✓	✓
Defluviicoccus vanus I	Προπιονικό οξύ	✓	x
Defluviicoccus vanus II	Προπιονικό οξύ	x	x

Προκύπτει ότι τα περισσότερα στελέχη των GAOs, αν και έχουν το ένζυμο για την αναγωγή των νιτρικών, δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων. Από την άλλη, και οι 2 τύποι των PAOs είναι σε θέση να απονιτρωδοποιήσουν. Επιπλέον, ως προς την προτιμώμενη πηγή τροφής, το γένος *Defluviicoccus vanus* μπορεί να αποτελέσει ανταγωνιστεί των PAOs για την πρόσληψη του προπιονικού οξέος, ωστόσο, από τη στιγμή

που δεν λειτουργεί με τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων, ο συνδυασμός της χρήσης προπινονικού με την εξασφάλιση νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης θα δώσουν το ανταγωνιστικό πλεονέκτημα που χρειάζονται τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια για να επικρατήσουν των υπολοίπων. Για να εξασφαλιστεί η νιτρωδοποίηση – απονιτρωδοποίηση ήταν αναγκαία η αναχαίτιση των NOBs βακτηριδίων μέσω κατάλληλης φόρτισης του αζώτου και ρύθμισης του θc.

Όσων αφορά τη θερμοκρασία, υπάρχουν πολλές αναφορές που αποδεικνύουν το ανταγωνιστικό πλεονέκτημα των PAOs έναντι των GAOs για θερμοκρασίες κοντά στους 20°C (Bassin et al., 2012; Panswad et al., 2003; Whang et al., 2002). Γενικά, η θερμοκρασία του συστήματος ήταν στο εύρος 16.2 – 21.7°C.

Επίσης, ήταν επιθυμητό το pH του συστήματος να κυμαίνεται μεταξύ 7.5 και 8.2, τόσο για να γίνεται αναχαίτιση των NOBs και να είναι εφικτή η οδός της νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης (Wang et al., 2017; Vadivelu et al., 2006a; Philips et al., 2002), όσο και για να γίνεται επιτυχημένη πρόσληψη και απομάκρυνση φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια (Zhang et al., 2007; Filipe et al., 2001c). Επειδή σε pH υψηλότερο από 8.2 – 8.25, ο ρυθμός πρόσληψης του φωσφόρου μειώνεται (Serralta et al., 2006), γινόταν κατάλληλη ρύθμισή του με διάλυμα καυστικού νατρίου (NaOH), ενώ όταν ήταν πολύ χαμηλό, ρυθμιζόταν με αραιό διάλυμα θειικού οξέος (H₂SO₄).

Επιπλέον, γίνονταν τακτικές παρακολουθήσεις ενός ολοκληρωμένου κύκλου του συστήματος σε εβδομαδιαία βάση που περιλάμβαναν καταγραφή των λειτουργικών χαρακτηριστικών του συστήματος (θερμοκρασία, pH, DO), μετρήσεις των θρεπτικών (PO₄-P, NH₄-N, NO₃-N, NO₂-N), καθώς και μετρήσεις των TSS, VSS και COD. Οι μετρήσεις γίνονταν στην αρχή και το τέλος της αναερόβιας φάσης, κάθε 30 λεπτά κατά τη διάρκεια της αερόβιας φάσης και κάθε 30 λεπτά για χρονικό διάστημα 1.5 ώρας στην ανοξική φάση. Τα δείγματα λαμβάνονταν απευθείας από τον αντιδραστήρα. Η επεξεργασία και ο υπολογισμός των συγκεντρώσεων γινόταν βάση των αναλυτικών μεθόδων που έχουν περιγραφεί (βλ. Ενότητα 3.2).

Σημειώνεται ότι υπήρξε μια περίοδος μόλις έγινε η εκκίνηση του συστήματος, όπου δεν λειτουργούσε αποτελεσματικά, παρουσιάζοντας πρόβλημα στην αποδοτική απομάκρυνση φωσφόρου. Η καθίζηση σε αυτή τη περίοδο δεν ήταν αποτελεσματική, πιθανώς λόγω της ανάπτυξης νηματοειδών μικροοργανισμών, με αποτέλεσμα η αφαίρεση της εκροής του συστήματος να μην είναι εφικτή. Μέχρι το σύστημα να λειτουργεί σε μόνιμες, σταθερές συνθήκες, ο έλεγχος της ανάπτυξης των πολυφωσφορικών γινόταν με αερόβια πειράματα batch.

Όταν επιτεύχθηκε η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων και το σύστημα παρουσίαζε υψηλή απόδοση απομάκρυνσης αζώτου και φωσφόρου, υλοποιήθηκαν batch πειράματα για τη διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στα πολυφωσφορικά βακτηρίδια σε ανοξικές συνθήκες και για το μηχανισμό αναχαίτισης της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στα πολυφωσφορικά βακτηρίδια.

3.3.3 Τροφοδοσία συστήματος

Η τροφοδοσία του συστήματος γινόταν με στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή υλός της ΕΕΛ στη Ψυττάλεια. Ανάλογα με την επιθυμητή φόρτιση αμμωνίας του συστήματος, τα στραγγίδια αραιώνονταν με νερό βρύσης ή εμπλουτίζονταν με αμμωνία μέσω αντίστοιχου διαλύματος χλωριούχου αμμωνίου (NH_4Cl), αφού πρώτα είχε μετρηθεί το αμμωνιακό φορτίο τους.

Η φόρτιση του συστήματος ξεκίνησε από τα $0.061 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ και έφτασε μέχρι τα $0.0155 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$. Στην πρώτη περίοδο λειτουργίας η φόρτιση ήταν στα $0.10 \pm 0.020 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$, ενώ στη συνέχεια, αφού έγινε σταδιακή αύξηση της φόρτισης στα $0.155 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ εντός μίας εβδομάδας (17/01/2021 - 25/01/2021), η φόρτιση παρέμεινε σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της δεύτερης περιόδου. Η ημερήσια φόρτιση ανά μήνα λειτουργίας παρουσιάζεται στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 3.2). Η χαμηλές φορτίσεις τον Σεπτέμβρη και τον Οκτώβρη η σημειώθηκαν κατά την αρχική περίοδο προσαρμογής του

συστήματος, πριν επιτευχθούν σταθερές συνθήκες, όπου, όπως αναφέρθηκε και πιο πριν, υπήρξε πρόβλημα στη καθαρισιμότητας της ιλύος.

Πίνακας 3.2: Ημερήσια φόρτιση NH₄-N ανά μήνα λειτουργίας

Μήνας	Φόρτιση NH ₄ -N (g NH ₄ -N/m ³ /d)
Σεπτέμβρης	0.061 - 0.075
Οκτώβρης	0.022 - 0.076
Νοέμβρης	0.081 - 0.097
Δεκέμβρης	0.080 - 0.113
Γενάρης	0.10 - 0.155
Φλεβάρης	0.155
Μάρτης	0.155
Απρίλης	0.155

Για να είναι επιτυχημένη η απομάκρυνση του εισερχόμενου φορτίου του φωσφόρου, πρέπει, σε μόνιμες συνθήκες, η βιομάζα των PAOs που παράγεται καθημερινά να επαρκεί για την πρόσληψη του. Για την ανάπτυξη και τη διασφάλιση αυτής της βιομάζας, είναι αναγκαία η κυριαρχία της έναντι των κοινών ανταγωνιστών της, δηλαδή τα GAOs, αλλά και έναντι των υπολοίπων μικροοργανισμών του συστήματος που ενδέχεται να την ανταγωνιστούν. Σε αυτά τα πλαίσια, τόσο το είδος της τροφής που χρησιμοποιείται, όσο και οι συνθήκες της τροφοδοσίας παίζουν σημαντικό ρόλο.

Όσον αφορά το είδος της οργανικής τροφής που χρησιμοποιήθηκε, επιλέχθηκε η τροφοδοσία με προπιονικό οξύ με την μορφή προπιονικού νατρίου (C₃H₅NaO₂), καθώς, όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο, αλλά και εκτενώς στην ενότητα (2.5.5), η χρήση του προπιονικού δίνει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs έναντι των GAOs, εξασφαλίζοντας την ανάπτυξή τους και την αποδοτική απομάκρυνση φωσφόρου. Επιπλέον, αυτό έχει επιβεβαιωθεί και από αντίστοιχη διπλωματική εργασία (Θέμελη, 2019), η οποία απέδειξε ότι κατά τη μακροχρόνια λειτουργία του βιοαντιδραστήρα τύπου SBR με νιτροδοποίηση-απονιτροδοποίηση, το προπιονικό οξύ βοήθησε στην κυριαρχία των PAOs.

Η ποσότητα του προπιονικού που εισαγόταν κάθε μέρα υπολογίστηκε με την ακόλουθη εξίσωση σε όρους COD με στόχο την ανάπτυξη της επιθυμητής μάζας μικροοργανισμών και για δεδομένο χρόνο παραμονής στερεών θ_c (Ανδρεαδάκης, 2015):

$$X_H = \frac{Y_H E_H F_o}{\frac{\theta}{\theta_c} (1 + b_H \theta_c)}$$

Κατά την εκκίνηση του συστήματος, προστίθενται 8 g COD στο διάλυμα της τροφής, ενώ στην πορεία η δόση αυξήθηκε μέχρι τα 8.5 g COD. Σημειώνεται ότι κατά τη διάρκεια της προβληματικής περιόδου του συστήματος η δόση του COD κάποιες μέρες ήταν λιγότερη.

Όπως έχει αναφερθεί και πιο πριν, οι αναερόβιες συνθήκες δίνουν την ευκαιρία στα πολυφωσφορικά βακτήρια να προσλάβουν οργανική τροφή υπό τη μορφή πτητικών λιπαρών οξέων (VFAs) και να δημιουργήσουν ενδοκυτταρικά πολυμερή (PHAs). Άρα, η παροχή διαλυτού BOD είναι απαραίτητη στην αναερόβια φάση, ώστε να δίνεται στα PAOs ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στη τροφή απέναντι στους κοινούς ετεροτροφικούς οργανισμούς.

Επίσης, με γνώμονα την προτεραιότητα των PAOs έναντι των υπόλοιπων μικροοργανισμών, ακολουθήθηκε συγκεκριμένη στρατηγική. Μετά το πέρας της αερόβιας φάσης, το σύστημα παρέμενε σε ανοξικές συνθήκες χωρίς προσθήκη BOD για 1.5 ώρα. Στη διάρκεια αυτή, τα PAOs, τα οποία είχαν αποθηκευμένο BOD, έχουν προτεραιότητα να απονιτρωδοποιήσουν έναντι των κοινών ετεροτροφικών απονιτρωδοποιητών, οι οποίοι έχουν μεγαλύτερη ταχύτητα (Hu et al., 2002). Επιπλέον, καθώς τα GAOs δεν μπορούν να λειτουργήσουν με τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων (Πίνακας 3.1), ο χρόνος κατά τον οποίο τα PAOs διατηρούν μεταβολικές ενέργειες είναι μεγαλύτερος. Όταν έχει περάσει η 1.5 ώρα, γίνεται εκ νέου τροφοδοσία με BOD, ώστε να απομακρυνθούν γρήγορα τα νιτρώδη που έχουν παραμείνει από τα PAOs και τους κοινούς απονιτρωδοποιητές για να εξασφαλιστούν αναερόβιες συνθήκες στην έναρξη του επόμενου κύκλου.

Η παρασκευή της τροφής γινόταν καθημερινά σε πλαστικό ποτήρι ζέσεως. Παρασκευαζόταν 1L τροφής, ενώ τροφοδοτούνταν 800 mL ημερησίως σε 8 δόσεις των 100 mL. Η πρώτη δόση εισερχόταν στο σύστημα στο πρώτο λεπτό της αναερόβιας φάσης προκειμένου να πραγματοποιηθεί ο αναερόβιος μεταβολισμός των πολυφωσφορικών βακτηρίων και οι υπόλοιπες εισέρχονταν στο σύστημα σε χρόνους βασισμένους στη λογική που περιγράφηκε στην προηγούμενη παράγραφο, δηλαδή 1.5 ώρα μετά την έναρξη των ανοξικών φάσεων και στην αρχή των αναερόβιων φάσεων.

Με την καθημερινή απομάκρυνση της περίσσειας ιλύος ολοκληρωνόταν η βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου. Επιπλέον, γινόταν καθημερινή προσθήκη φωσφόρου στο σύστημα ως διάλυμα φωσφορικού καλίου (KH_2PO_4) με συγκέντρωση φωσφόρου 5 gP/L πριν την έναρξη της αναερόβιας φάσης για την εξασφάλιση επαρκούς ποσότητας φωσφόρου κατά τον αναερόβιο μεταβολισμό των PAOs. Αρχικά, εισάγονταν στο σύστημα 50 ml διαλύματος, τα οποία αυξήθηκαν σε 100 ml κατά τη διάρκεια της λειτουργίας του.

3.4 Πειράματα ασυνεχούς ροής (batch)

Η ελεύθερη αμμωνία και το ελεύθερο νιτρώδες οξύ μπορούν να αποβούν τοξικά για τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια. Το ελεύθερο νιτρώδες οξύ έχει ήδη αποδειχθεί ανασταλτικό σε προηγούμενη έρευνα (Κούκουρα, 2020). Για την διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στα πολυφωσφορικά βακτηρίδια σε ανοξικές συνθήκες, πραγματοποιήθηκαν πειράματα ασυνεχούς ροής (batch). Ουσιαστικά μελετούνται τα πολυφωσφορικά βακτήρια, τα οποία είναι σε θέση και να απονιτρωδοποιούν, εκτός από το να απομακρύνουν φώσφορο, δηλαδή τα DPAOs. Έλαβαν χώρα δύο σειρές πειραμάτων batch για $\text{pH} = 8$ και $\text{pH} = 8.5$.

Επιπλέον, αφού επιβεβαιώθηκε ότι η ελεύθερη αμμωνία, και όχι το αμμωνιακό άζωτο, ήταν ο αναχαιτιστικό παράγοντας στη λειτουργία των πολυφωσφορικών βακτηριδίων, διερευνήθηκε ο μηχανισμός αναχαιτίσης στην ανοξική δράση των DPAOs. Η διερεύνησή του

έγινε μέσω αντίστοιχων batch πειραμάτων τόσο για τα το ελεύθερο νιτρώδες οξύ, όσο και για την ελεύθερη αμμωνία. Για την κάθε περίπτωση υλοποιήθηκαν 3 συνεχόμενα πειράματα για σταθερό pH = 8 (± 0.05), σταθερή θερμοκρασία ($\pm 1^{\circ}\text{C}$) και για διαφορετικές συγκεντρώσεις φωσφόρου.



Σχήμα 3.11: Πειράματα batch

Στο επόμενο κεφάλαιο γίνεται εκτενής περιγραφή των πειραμάτων και των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από αυτά.

4 Αποτελέσματα

4.1 Εισαγωγή

Ο φώσφορος και το άζωτο αποτελούν σημαντικά θρεπτικά συστατικά για το περιβάλλον. Ωστόσο, η ανεξέλεγκτη εναπόθεσή τους μπορεί να προκαλέσει πολλά προβλήματα. Για το λόγο αυτό, η επιτυχημένη απομάκρυνσή τους μέσω των εγκαταστάσεων επεξεργασίας λυμάτων για να μην καταλήξουν, εν τέλει, στα υδάτινα σώματα, είναι πολύ σημαντική.

Η βιολογική απομάκρυνση του αζώτου μέσω της νιτροδοποίησης – απονιτροδοποίησης είναι μια μέθοδος επεξεργασίας με πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με την κλασική οδό της νιτροποίησης – απονιτροποίησης, καθώς οδηγεί σε μειωμένη παραγωγή λάσπης και μειωμένο κόστος λειτουργίας, λόγω της εξοικονόμησης οξυγόνου και οργανικού φορτίου.

Όσον αφορά τον φώσφορο, η αφαίρεσή του μέσω της βιολογικής οδού έχει αποδειχτεί μια αποτελεσματική, οικονομικά συμφέρουσα και περιβαλλοντικά φιλική μέθοδος. Στη συγκεκριμένη μέθοδο, ο φώσφορος απομακρύνεται με τη βοήθεια των πολυφωσφορικών βακτηριδίων (PAOs), τα οποία σε αναερόβιες συνθήκες είναι σε θέση να προσλάβουν οργανική τροφή και να την αποθηκεύσουν ως ενδοκυτταρικά πολυμερή (PHAs), εκλύοντας φώσφορο με τη μορφή ορθοφωσφορικών στο υδάτινο μέσο, ενώ, υπό την παρουσία αποδέκτη ηλεκτρονίων, παράγουν ενέργεια μέσω της οξείδωσης των PHAs και προσλαμβάνουν φώσφορο ενδοκυτταρικά. Τελικά, ο φώσφορος απομακρύνεται με την απομάκρυνση της περίσσειας ιλύος, η οποία έχει εμπλουτιστεί με πολυφωσφορικά βακτήρια.

Η συνδυασμένη εφαρμογή των δύο αυτών βιολογικών μεθόδων, μπορεί να γίνει μέσω των DPAOs, δηλαδή των πολυφωσφορικών βακτηριδίων που χρησιμοποιούν το νιτρώδες άζωτο ($\text{NO}_2\text{-N}$) ως αποδέκτη ηλεκτρονίων και απομακρύνουν παράλληλα φώσφορο και άζωτο.

Επιπλέον, σε υδατικά σώματα με υψηλές συγκεντρώσεις αζώτου, όπως τα στραγγίδια αφυδάτωσης, υπάρχουν παράγοντες, όπως η ελεύθερη αμμωνία (FA) και το ελεύθερο νιτρώδες οξύ (FNA), που καθιστούν την επεξεργασία μέσω νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης ως την καλύτερη οδό. Η ανασταλτική δράση τους στα βακτήρια οξείδωσης νιτρωδών (NOB), αλλά και στην αερόβια δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων είναι γνωστή. Στόχος της παρούσας διπλωματικής είναι η διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων και ο προσδιορισμός του μηχανισμού αναχαίτισης τόσο της ελεύθερης αμμωνίας, όσο και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος.

Για την επίτευξη αυτού του στόχου, αναπτύχθηκαν πολυφωσφορικά βακτηρίδια σε ένα πιλοτικό σύστημα με ανάμικτο υγρό από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας. Η καλλιέργεια των βακτηριδίων έγινε σε έναν αντιδραστήρα εναλλασσόμενης λειτουργίας (Sequencing Batch Reactor-SBR), ο οποίος τροφοδοτείτο με στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή ιλύος της ΕΕΛ της Ψυττάλειας, τα οποία περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις αμμωνίας.

Σε αυτά τα πλαίσια, πραγματοποιήθηκαν σειρές πειραμάτων για την αναχαίτιση της ελεύθερης αμμωνίας στα πολυφωσφορικά βακτήρια σε τιμές pH = 8 και pH = 8.5, καθώς και πειράματα για τον μηχανισμό αναχαίτισης στην ανάπτυξη των PAOs λόγω της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Στο παρόν κεφάλαιο, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τα πειράματα αυτά.

4.2 Λειτουργία και παρακολούθηση συστήματος

4.2.1 Πορεία συστήματος

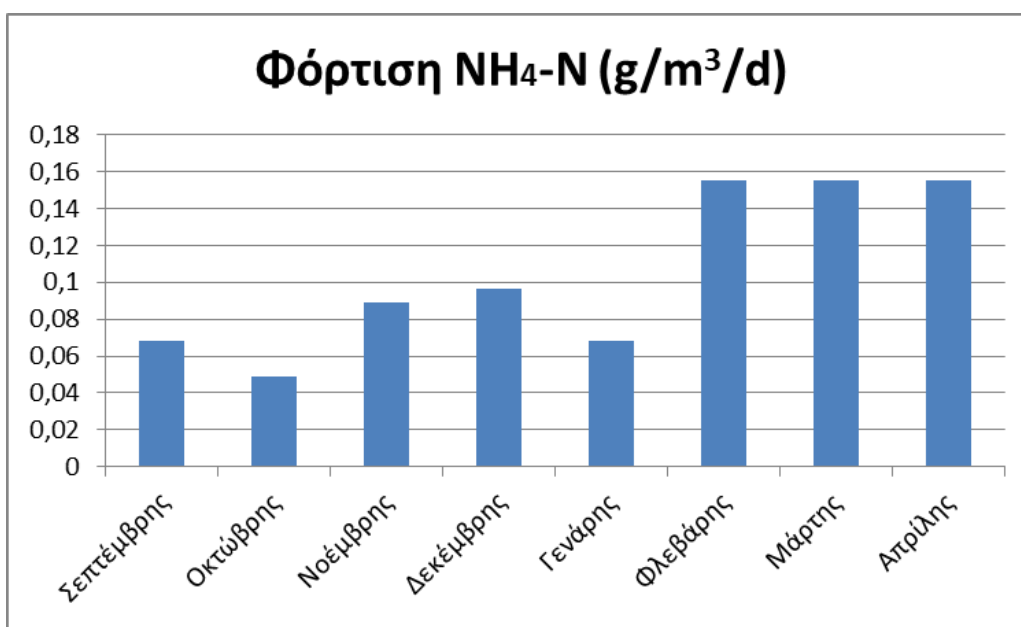
Το σύστημα λειτούργησε από τις 16 Σεπτεμβρίου 2020 μέχρι τις 25 Απριλίου 2021. Η πρώτη περίοδος λειτουργίας ξεκίνησε όταν είχαν αναπτυχθεί τα πολυφωσφορικά βακτήρια και είχε επιτευχθεί ικανοποιητικός αερόβιος ρυθμός πρόσληψης και αφορά το χρονικό

διάστημα μεταξύ 4 Νοεμβρίου 2020 μέχρι 17 Ιανουαρίου 2021 και η δεύτερη περίοδος το χρονικό διάστημα μεταξύ 25 Ιανουαρίου 2021 και 25 Απριλίου 2021, όταν έγινε αύξηση της αμμωνιακής φόρτισης του συστήματος. Η καθημερινή του λειτουργία περιλάμβανε 4 ίδιους κύκλους των 5.5 ωρών, όπου γινόταν αλλαγή των συνθηκών του. Συγκεκριμένα, εναλλάσσονταν αναερόβιες, αερόβιες και ανοξικές συνθήκες με χρονική διάρκεια 1, 2 και 2.5 ωρών, αντίστοιχα. Στο τέλος των 4 κύκλων, το σύστημα έμενε σε συνθήκες ηρεμίας για 2 ώρες για να γίνει καθίζηση. Τόσο η χρονική διάρκεια της κάθε φάσης, όσο και οι υπόλοιπες λειτουργικές παράμετροι του συστήματος, επιλέχθηκαν με στόχο να ευνοηθεί η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων έναντι των κύριων ανταγωνιστών τους, των GAOs, αλλά και έναντι άλλων ετεροτροφικών βακτηριδίων που ενδέχεται να τα ανταγωνιστούν, όπως τα απονιτροποιητικά βακτήρια.

Από τη μέρα εκκίνησής του το σύστημα χρειάστηκε περίπου 40 ημέρες μέχρι να πετύχει σταθερή αερόβια ταχύτητα απομάκρυνσης φωσφόρου. Λόγω των στραγγιδίων αφυδάτωσης τα οποία περιέχουν μεγάλες συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου, το σύστημα σημείωνε υψηλές συγκεντρώσεις νιτρωδών. Αυτό φάνηκε από την αρχή της λειτουργίας του συστήματος, όπου σημειώνονταν ψηλότερες συγκεντρώσεις νιτρωδών αντί νιτρικού αζώτου στην αερόβια φάση, υποδηλώνοντας την αναχαίτιση των βακτηρίων NOBs λόγω της τοξικότητας του FNA και πετυχαίνοντας την εφαρμογή της βιολογικής οδού της νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης για την απομάκρυνση του αζώτου. Όπως αναλύθηκε και πιο πριν (βλ. 3.3.2), αυτό σε συνδυασμό με τη χρήση προπιονικού ως πηγή άνθρακα, έδινε ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στα PAOs έναντι των GAOs, καθώς δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων σε αυτές τις συνθήκες τροφοδοσίας (Oehmen et al., 2010a).

Η οργανική φόρτιση του συστήματος ξεκίνησε από τα 8 g προπιονικού και αυξήθηκε στα 8.5 g, καθώς η απαίτηση της οργανικής τροφής από τους απονιτρωδοποιητές και τα πολυφωσφορικά βακτήρια ήταν μεγαλύτερη με τον χρόνο. Ο χρόνος παραμονής στερεών διατηρήθηκε σταθερός και ίσος με 10 ημέρες, καθ' όλη την διάρκεια της λειτουργίας του αντιδραστήρα και η ρύθμιση του pH συνέχισε στα ίδια επίπεδα (7.5 - 8.2), όπως και η

παροχή οξυγόνου (>3 mg/L). Η αμμωνιακή φόρτιση ξεκίνησε από τα 0.062 g/m³/d και έφτασε στα 0.155 g/ m³/d. Η σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης του αμμωνιακού αζώτου, και, κατά συνέπεια, του νιτρώδους αζώτου, οδήγησε στον εγκλιματισμό της βιομάζας. Με την καθημερινή μέτρηση του αμμωνιακού αζώτου στην εκροή, εξασφαλιζόταν η αποδοτική απομάκρυνση του αζώτου. Μεμονωμένες αυξημένες τιμές στην εκροή παρουσιάζονταν σε περιπτώσεις μη επαρκούς αερισμού λόγω έμφραξης της ελαφρόπετρας, γεγονός που διορθωνόταν με την αντικατάστασή της. Η μηνιαία διακύμανσή της αμμωνιακής φόρτισης παρουσιάζεται στο επόμενο διάγραμμα (Σχήμα 4.1).



Σχήμα 4.1: Μηνιαία αμμωνιακή φόρτιση του συστήματος

Σημειώνεται ότι υπήρξε μια περίοδος (29/9/2020 - 25/10/2020) κατά την εκκίνηση του συστήματος, όπου δεν λειτουργούσε αποτελεσματικά. Συγκεκριμένα, την 13^η μέρα λειτουργίας του ξεκίνησε να παρουσιάζει πρόβλημα η καθιζησιμότητα των βιοκροκίδων του συστήματος, χωρίς να είναι αρκετή η περίοδος των 2 ωρών για να επιτευχθεί η καθίζηση, κάνοντας την απομάκρυνση της εκροής ανέφικτη. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στην υπερβολική ανάπτυξη νηματοειδών μικροοργανισμών, που, ενδεχομένως, να περιέχονταν στην ιλύ από τη Ψυττάλεια, σε βάρος των υπολοίπων συσσωματούμενων

μικροοργανισμών, οι οποίοι, λόγω της μορφολογίας τους, δυσχεραίνουν την καθίζηση της βιομάζας και οδηγούν σε υψηλές τιμές του δείκτη καθιζησιμότητας SVI (Sludge Volume Index) (Νουτσόπουλος Κ. & Μαμάης Δ., 2020). Καθώς δεν απομακρυνόταν εκροή, μειώθηκε η αμμωνιακή φόρτιση του συστήματος και η οργανική φόρτιση (μείωση ποσότητας του προπιονικού από 8 g/d στα 4-5 g/d) για να περιοριστεί η ανάπτυξη των νηματοειδών, μέχρι η καθίζηση να γίνει αποτελεσματική και πάλι, όπως επίσης και η ποσότητα του φωσφόρου που εισαγόταν στο σύστημα, αφού τα πολυφωσφορικά δεν είχαν την απαραίτητη οργανική τροφή για να σχηματίσουν τα αναγκαία ΡΗΑ, ώστε να είναι εφικτή η πρόσληψη των ορθοφωσφορικών. Παράλληλα, σε αυτό το διάστημα το pH της εκροής παρουσίασε σημαντική αύξηση, φτάνοντας μέχρι και το 8.9. Ως αποτέλεσμα, μειώθηκε η αερόβια πρόσληψη φωσφόρου, υποδηλώνοντας τη αναστολή της ανάπτυξης των πολυφωσφορικών βακτηριδίων. Όταν βελτιώθηκε η καθίζηση και επανήλθε η σωστή λειτουργία του συστήματος, το pH του συστήματος επανήλθε στις επιθυμητές τιμές (7.5 - 8.2), η ποσότητα του εισερχόμενου COD και του εισερχόμενου φωσφόρου επέστρεψαν στις συνηθισμένες τιμές και αυξήθηκε ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης.

Μέχρι το σύστημα να λειτουργεί σε μόνιμες, σταθερές συνθήκες, ο έλεγχος της ανάπτυξης των πολυφωσφορικών γινόταν με αερόβια πειράματα batch, όπου μετριόταν ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου, ενώ, όταν ο αερόβιος ρυθμός είχε αυξηθεί αρκετά, πραγματοποιήθηκε αντίστοιχο ανοξικό πείραμα batch για την εκτίμηση του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου. Όταν επιτεύχθηκε η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων και παρουσιάστηκε υψηλή απόδοση απομάκρυνσης αζώτου και φωσφόρου, υλοποιήθηκαν batch πειράματα για τη διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στα πολυφωσφορικά σε ανοξικές συνθήκες και για το μηχανισμό αναχαίτισης των πολυφωσφορικών βακτηριδίων.

Στα τέλη Φεβρουαρίου, παρουσιάστηκε ένα πρόβλημα στη γραμμή της ιλύος της Ψυττάλειας και δεν ήταν εφικτή η συλλογή των στραγγιδίων αφυδάτωσης. Έτσι, η τροφοδοσία του αντιδραστήρα άλλαξε και γινόταν με στραγγίδια υδρόλυσης. Φάνηκε ότι τα στραγγίδια υδρόλυσης επιδείνωσαν την απόδοση του συστήματος, καθώς

δημιουργήθηκε αφρός στην επιφάνεια του υγρού, ενώ υπήρξε και πρόβλημα στη καθίζηση, εμποδίζοντας την απομάκρυνση της εκροής. Παρόλο που η υψηλή συγκέντρωση διαλυμένου οξυγόνου που επικρατούσε στο σύστημα και η υψηλή οργανική φόρτιση δεν ευνοούν την ανάπτυξη των νηματοειδών, είναι πιθανόν η βιομάζα από την Ψυτάλεια να είχε μια ποσότητα νηματοειδών βακτηρίων, οι οποίοι να προκάλεσαν διόγκωση στη λάσπη. Μια άλλη πιθανή εξήγηση είναι το γεγονός ότι τα στραγγίδια υδρόλυσης περιέχουν υψηλή συγκέντρωση ευκολοδιασπάσιμου COD (Noutsopoulos et al., 2018) με αποτέλεσμα να τείνουν οι μικροοργανισμοί να μην σχηματίζουν βιοκροκίδες και να δυσχεραίνεται η καθίζηση. Επιπλέον, η χρήση των στραγγιδίων της υδρόλυσης φάνηκε να επιδεινώνει την διαδικασία της νιτροδοποίησης, καθώς παρατηρήθηκε συσσώρευση του αμμωνιακού αζώτου στην εκροή. Όταν αποκαταστήθηκε η νιτροδοποίηση, παρατηρήθηκε αύξηση στη συγκέντρωση των νιτρικών στην εκροή, υποδηλώνοντας πρόβλημα στην απονιτροδοποίηση κατά την ανοξική φάση. Με την αύξηση του προπιονικού οξέος στα 9 g, επιλύθηκε το πρόβλημα, όμως η φάση της καθίζησης δεν είχε αποκατασταθεί εντελώς.

Γι' αυτό το λόγο, η τροφοδοσία άλλαξε στις 15/03/2021 και γινόταν με συνθετικά λύματα, τα οποία παρασκευάζονταν καθημερινά με νερό βρύσης, 8.5 g προπιονικό οξύ και κατάλληλη ποσότητα διαλύματος χλωριούχου αμμωνίου συγκέντρωσης 20 g/L, ώστε να επικρατεί η εκάστοτε επιθυμητή φόρτιση στο σύστημα. Σκοπός ήταν η βελτίωση της καθιζησιμότητας και η έκπλυση των νηματοειδών μικροοργανισμών. Όμως, ενώ τα στραγγίδια λόγω του ότι περιείχαν αλκαλικότητα επέτρεπαν τη διατήρηση του pH στις επιθυμητές τιμές, η απουσία αντίστοιχης αλκαλικότητας στα συνθετικά λύματα οδήγησε σε μεγάλη μείωση του pH. Αυτό συνεπάγεται ανταγωνιστικό πλεονέκτημα υπέρ των GAOs (Filipe et al., 2001a,c). Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση των νιτροδών στην εκροή, υποδηλώνοντας ατελή απονιτροδοποίηση κατά την ανοξική φάση. Όλα αυτά είχαν ως αποτέλεσμα τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια να αναχαιτιστούν, πιθανότατα λόγω του FNA, και ο ρυθμός απομάκρυνσης φωσφόρου να μειωθεί. Σημειώνεται ότι δεν αποκαταστήθηκε η καθίζηση της ιλύος.

Έγιναν διάφορες προσπάθειες για να επανέλθει η αποδοτική λειτουργία του συστήματος. Προστέθηκε αλκαλικότητα υπό τη μορφή διαλύματος KHCO_3 σε ποσότητα 5 g και έπειτα 7.5 g, για να αυξηθεί το pH, ενώ άλλαξε και η τροφοδοσία του συστήματος, όπου χρησιμοποιήθηκαν πάλι στραγγίδια υδρόλυσης. Αν και το pH του συστήματος επανήλθε στις φυσιολογικές τιμές, τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια, τα οποία είχα εγκλιματιστεί σε συγκεκριμένες συνθήκες, δεν κατάφεραν να ανακάμψουν μετά την έκθεσή τους στο FNA, και τελικά το σύστημα αστόχησε. Όσον αφορά την απομάκρυνση αζώτου, συνέχισε να είναι αποδοτική σε όλο το διάστημα των αυξομειώσεων του pH.

Στον ακόλουθο πίνακα, παρουσιάζονται οι λειτουργικές παράμετροι του συστήματος.

Πίνακας 4.1: Λειτουργικές παράμετροι του συστήματος SBR

Παράμετρος	Τιμή	Μονάδα μέτρησης
Παροχή λυμάτων (Q)	5	L/d
Οργανική φόρτιση (F/M)	0.18 – 0.50	g COD/g MLVSS/d
Αμμωνιακή φόρτιση (A/M)	0.06 – 0.155	g $\text{NH}_4\text{-N}/\text{m}^3/\text{d}$
pH	7.5 - 8.2	-
Θερμοκρασία (T)	16.2 - 21.7	°C
Διαλυμένο οξυγόνο (DO)	>3	mg/L
Ολικά αιωρούμενα στερεά (MLSS)	2.40 – 7.02	g/L
Αιωρούμενα πτητικά στερεά (MLVSS)	1.64 - 4.66	g/L
Υδραυλικός χρόνος παραμονής (HRT)	2	d
Χρόνος παραμονής στερεών (SRT)	10	d
Περίσσεια ιλύς (w)	0.5 – 0.8	L/d

4.2.2 Φαινομενικό αερόβιο PUR

Ο ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου PUR (Phosphorous Uptake Rate) αφορά τη ταχύτητα με την οποία δεσμεύεται ο φωσφόρος από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια σε συνθήκες παρουσίας αποδέκτη ηλεκτρονίων, δηλαδή αερόβιες ή ανοξικές. Το στάδιο της πρόσληψης του φωσφόρου είναι αναγκαίο για τη βιολογική απομάκρυνση του φωσφόρου, καθώς η απομάκρυνση του επιτυγχάνεται με την αφαίρεση της περίσσειας ιλύος, εμπλουτισμένης με πολυφωσφορικά βακτηρίδια, τα οποία έχουν δεσμεύσει ενδοκυτταρικά μεγάλες ποσότητες διαλυμένου φωσφόρου. Όποτε το PUR αποτελεί ουσιαστικά δείκτη της αποτελεσματικής εφαρμογής της μεθόδου. Σημειώνεται πως δεν δεσμεύεται όλος ο φώσφορος από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια, αφού ένα μέρος του που απομακρύνεται με χημική κατακρήμνιση. Ο υπολογισμός του γίνεται με τον ακόλουθο τύπο:

$$\text{PUR} \left(\frac{\text{mgP}}{\text{gVSS} * \text{hr}} \right) = \frac{d\text{PO}_4 - \text{P} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)}{\text{MLVSS} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) * dt(\text{hr})}$$

Όπου PUR: Ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου (mgPO₄-P/gVSS/hr)

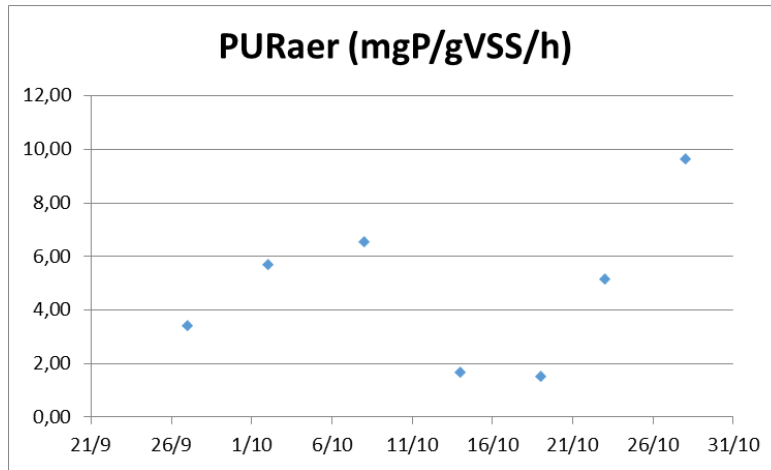
dPO₄-P: Μεταβολή στη συγκέντρωση φωσφόρου (mgPO₄-P /L)

MLVSS: Συγκέντρωση πτητικών αιωρούμενων στερεών (gVSS/L)

dt: Χρονική διάρκεια πρόσληψης (hr)

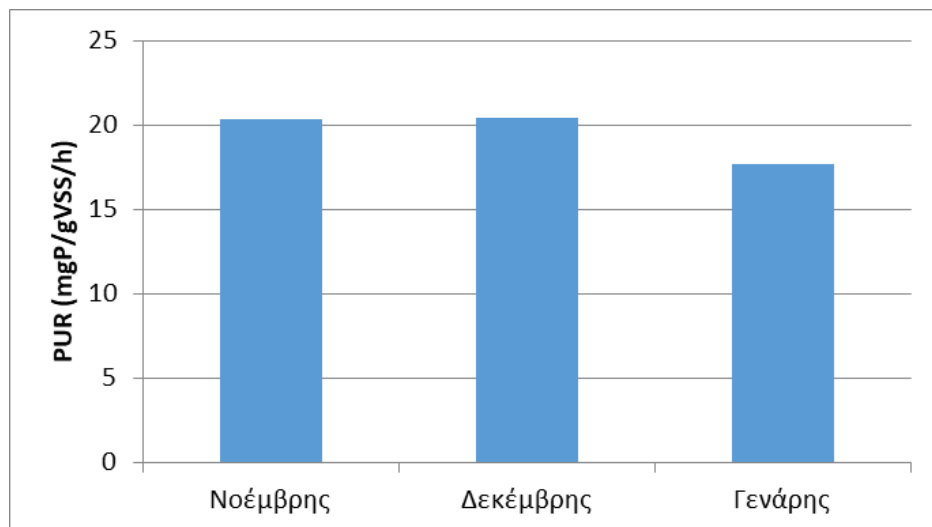
Από την έναρξη της λειτουργίας του αντιδραστήρα εκτελούνταν δοκιμαστικά batch πειράματα για την εκτίμηση της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια PAOs χωρίς την παρουσία αναχαιτιστικών ουσιών. Όταν ο ρυθμός της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου έφτασε σε ικανοποιητικά επίπεδα, υλοποιήθηκε ένα αντίστοιχο batch πείραμα για να επιβεβαιωθεί η ύπαρξη ανοξικής πρόσληψης φωσφόρου, πριν την εκκίνηση των πειραμάτων. Στο ακόλουθο σχήμα (Σχήμα 4.2) παρουσιάζεται η πορεία της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου κατά την εκκίνηση του συστήματος, μέχρι να ο ρυθμός PUR να κριθεί επαρκής. Σημειώνεται ότι η μείωση του ρυθμού PUR έγινε κατά την προβληματική περίοδο του συστήματος, όταν το pH παρουσίασε αύξηση των τιμών του. Με

την επαναφορά του συστήματος και του pH, η ανάπτυξη των πολυφωσφορικών μικροοργανισμών και ο ρυθμός PUR αυξήθηκε.



Σχήμα 4.2: Διακύμανση PUR κατά την εκκίνηση του συστήματος

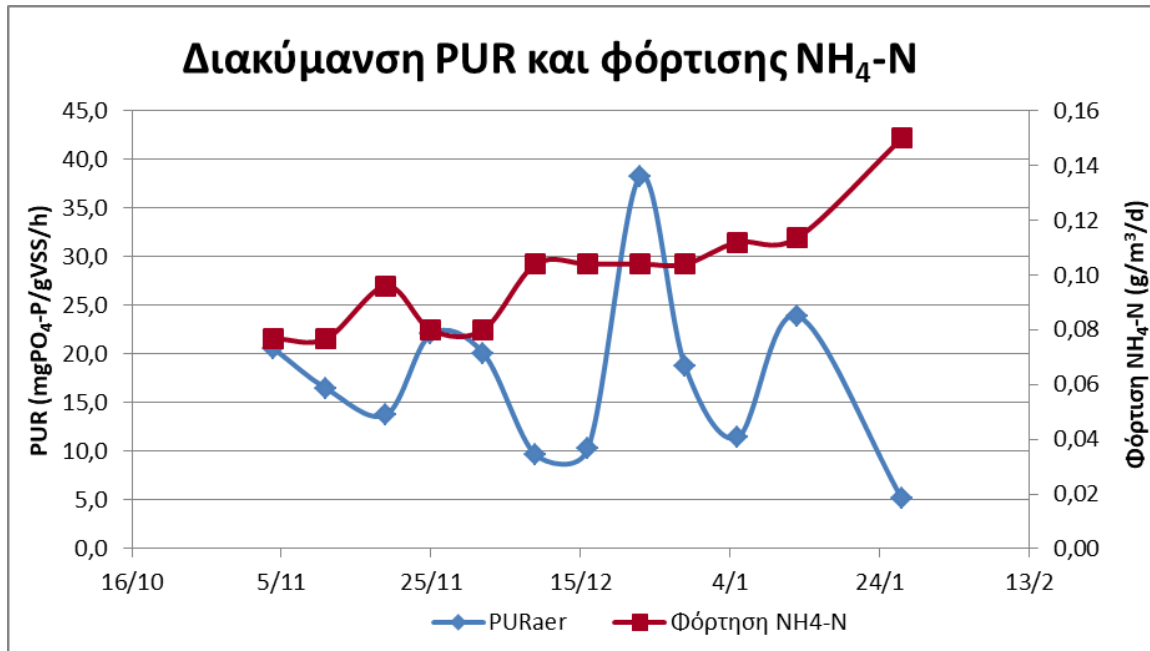
Κατά το υπόλοιπο διάστημα της λειτουργίας του αντιδραστήρα, ο αερόβιος ρυθμός PUR ελεγχόταν σε εβδομαδιαία βάση μέσω των παρακολουθήσεων του πρώτου κύκλου του συστήματος, οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά στο Παράρτημα. Βάση των εβδομαδιαίων μετρήσεων, υπολογίστηκε ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης για κάθε μήνα ως ο μέσος όρος των αντίστοιχων PURaer. Ο ρυθμός αυτός είναι φαινομενικός και δεν αφορά μόνο την δέσμευση φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια, αλλά και πιθανή χημική κατακρήμνιση που ενδέχεται να λάμβανε χώρα και να επιδρούσε στην απομάκρυνση φωσφόρου. Το αερόβιο PUR κάθε μήνα παρουσιάζεται ακολούθως βάση των αντίστοιχων μέσων όρων (Σχήμα 4.3).



Σχήμα 4.3: Μηνιαίος αερόβιος ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου του συστήματος

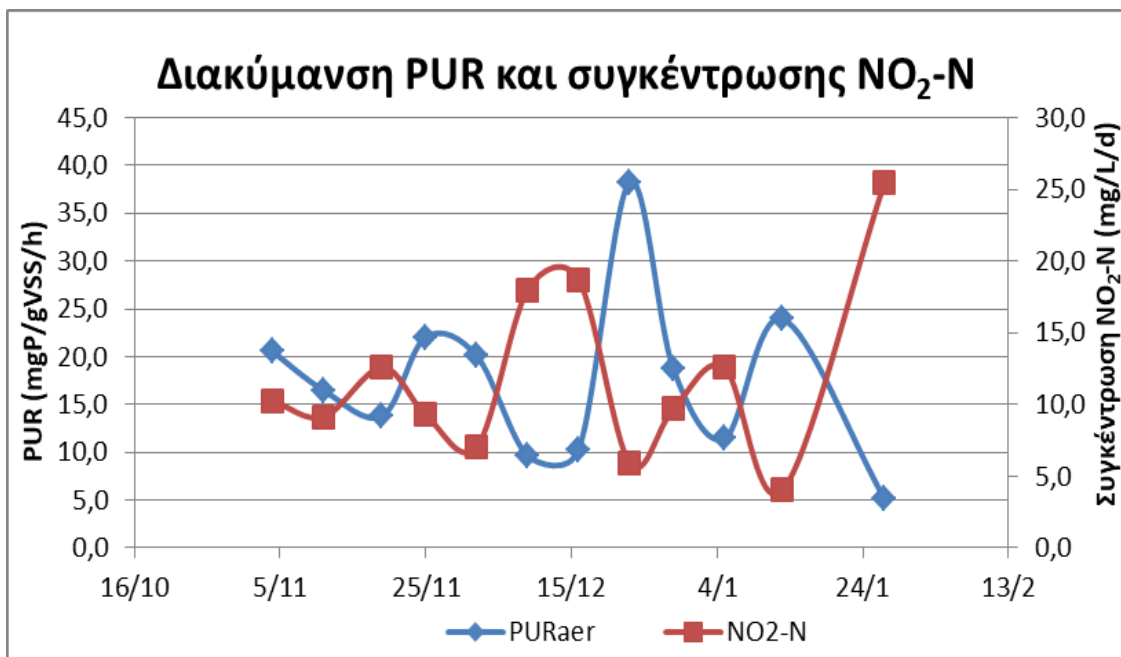
Η αύξηση της αμμωνιακής φόρτισης του συστήματος γινόταν σταδιακά. Κάθε φορά, μετά τον εγκλιματισμό της βιομάζας στην υψηλή φόρτιση αμμωνίας, σημειώνονταν μεγάλες αποδόσεις απομάκρυνσης αζώτου. Η απομάκρυνση αζώτου γινόταν μέσω νιτροδοποίησης – απονιτροδοποίησης, αφού η συγκέντρωση των νιτροδών στο πέρας της αερόβιας φάσης ήταν μεγαλύτερη από εκείνη των νιτρικών, αποδεικνύοντας την επιτυχημένη αναχαίτιση των NOBs και επιβεβαιώνοντας το ανταγωνιστικό πλεονέκτημα των PAOs έναντι των GAOs. Ο αερόβιος ρυθμός πρόσληψης του φωσφόρου παρουσίαζε μια μικρή επιδείνωση και μετά επανερχόταν. Όταν ο αντιδραστήρας λειτουργούσε σωστά, το αερόβιο PUR ήταν στο εύρος 10 – 40 mgPO₄-P /gVSS/h.

Στη συνέχεια, απεικονίζεται η διακύμανση του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου με τη διακύμανση της αμμωνιακής φόρτισης (Σχήμα 4.4).



Σχήμα 4.4: Διακύμανση PUR και φόρτισης NH₄-N

Η σχέση του αερόβιου PUR και της αμμωνιακής φόρτισης είναι αντίστροφη. Παρατηρούμε πως η αύξηση του φορτίου του αμμωνιακού αζώτου στον αντιδραστήρα, προκαλούσε μείωση της ταχύτητας πρόσληψης φωσφόρου. Αυτό, πιθανώς να γινόταν γιατί χρειαζόταν ένα διάστημα μέχρι τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια να μπορούν να εγκλιματιστούν στη μεταβολή της φόρτισης και να είναι σε θέση να δεσμεύσουν αποδοτικά το φώσφορο. Ο χρόνος εγκλιματισμού υπολογίζεται γύρω στη μια βδομάδα, αφού τα πιο πάνω διαγράμματα έχουν διαφορά φάσης περίπου 7-10 ημερών. Από την άλλη, υπάρχουν και άλλοι αστάθμητοι παράγοντες, εκτός της αύξησης τη φόρτισης, που μπορεί να επιδρούσαν στο αερόβιο PUR.



Σχήμα 4.5: Διακύμανση PUR και συγκέντρωσης NO₂-N

Στο πιο πάνω διάγραμμα (Σχήμα 4.5) φαίνεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρωδών στο τέλος των δύο ωρών της αερόβιας φάσης με την αντίστοιχη μεταβολή του PUR. Στο πέρας της αερόβιας φάσης η συγκέντρωση των νιτρωδών ήταν επαρκής, όμως τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια χρειάζονταν κάποιες μέρες να εγκλιματιστούν στη μεταβολή της συγκέντρωσής τους. Επιπλέον, όταν η συγκέντρωση αυτή αυξήθηκε ραγδαία (27/1), ο αερόβιος PUR έπεσε απότομα, πιθανώς λόγω τοξικότητας, καθώς είχε παρατηρηθεί και μείωση στο pH, η οποία συνεπάγεται αύξηση στη συγκέντρωση του FNA.

4.2.3 Ανοξική δράση πολυφωσφορικών βακτηριδίων

Δεν ήταν εφικτός ο άμεσος προσδιορισμός του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου μέσω των εβδομαδιαίων παρακολουθήσεων που υλοποιούνταν, καθώς με το πέρας της αερόβιας φάσης η συγκέντρωση φωσφόρου ήταν σχεδόν αμελητέα. Η εκτίμησή του γινόταν με τα ανοξικά batch πειράματα που έλαβαν χώρα και θα παρουσιαστούν σε επόμενη

ενότητα. Αξίζει να σημειωθεί όταν δεν παρατηρείται έκλυση φωσφόρου κατά την ανοξική φάση, υποδεικνύοντας επιτυχία του συστήματος.

Από την άλλη, μελετήθηκε η απονιτρωδοποιητική ικανότητα των DPAOs. Όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 3.3.3, η λειτουργία του συστήματος είχε προγραμματιστεί με τέτοιο τρόπο, ώστε την πρώτη 1.5 ώρα της ανοξικής φάσης τα DPAOs να κυριαρχούν έναντι των κοινών ετεροτροφικών απονιτροποιητών και να πραγματοποιούν την απομάκρυνση των νιτρωδών. Ο ρυθμός απονιτρωδοποίησης υπολογίζεται ως εξής:

$$dN\left(\frac{\text{mgNO}_2 - \text{N}}{\text{gVSS} * \text{hr}}\right) = \frac{d\text{NO}_2 - \text{N}\left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}{\text{MLVSS}\left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right) * dt(\text{hr})}$$

Όπου dN : Ρυθμός απονιτρωδοποίησης (mgNO₂-N/gVSS/hr)

$d\text{NO}_2\text{-N}$: Μεταβολή στη συγκέντρωση των νιτρωδών (mgNO₂-N/L)

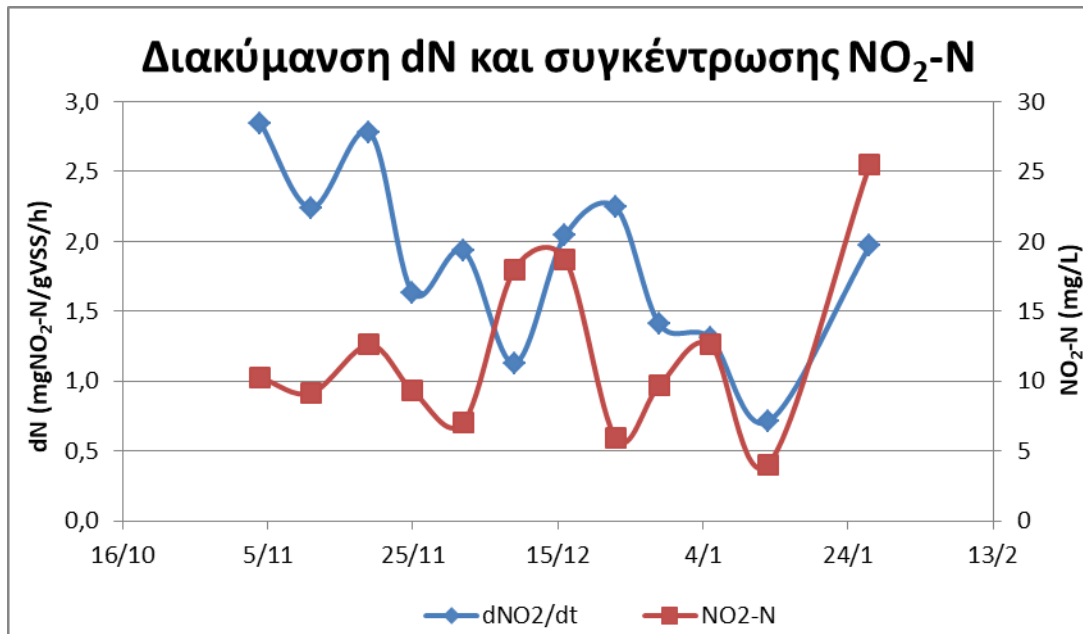
MLVSS: Συγκέντρωση πτητικών αιωρούμενων στερεών (gVSS/L)

dt : Χρονική διάρκεια ανοξικής φάσης (hr)

Σημειώθηκε μέγιστος ρυθμός απομάκρυνσης νιτρωδών $dN_{\text{max}} = 2.85 \text{ mgNO}_2\text{-N/gVSS/h}$ και ελάχιστος ρυθμός $dN_{\text{min}} = 0.71 \text{ mgNO}_2\text{-N/gVSS/h}$, ενώ συνήθως οι τιμές κυμαίνονταν στο εύρος $1.3 - 2.2 \text{ mgNO}_2\text{-N/gVSS/h}$. Αντίστοιχες τιμές του ρυθμού απονιτρωδοποίησης στη βιβλιογραφία ανήκουν στα εύρη $0.64 - 1.84 \text{ mgNO}_2\text{-N/gVSS/h}$ (Zielińska et al., 2016) και $0.58 - 3.38 \text{ mgNO}_2\text{-N/gVSS/h}$ (Zhou et al., 2010a). Επιπλέον, μετά το πέρας της 1.5 ώρας η συγκέντρωση των νιτρωδών συνήθως μειωνόταν κατά 70%, ενώ υπήρξαν περίοδοι όπου τα DPAOs επιτύγχαναν πάνω από 95% απομάκρυνση.

Ακολουθως, παρουσιάζεται η διακύμανση του ρυθμού απονιτρωδοποίησης κατά την πρώτη 1.5 ώρα της ανοξικής φάσης συναρτήσει τη συγκέντρωσης νιτρωδών στην αρχή της ανοξικής φάσης (Σχήμα 4.6). Η διακύμανση του ρυθμού απονιτρωδοποίησης φαίνεται να ακολουθεί την διακύμανση της συγκέντρωσης των νιτρωδών με κάποια καθυστέρηση. Θεωρώντας ότι η απονιτρωδοποίηση που λαμβάνει χώρα την πρώτη 1.5 ώρα γίνεται αποκλειστικά από τα DPAOs, καθώς δεν έχει γίνει προσθήκη οργανικής τροφής για να

μπορούν να απονιτρωδοποιήσουν οι κοινοί ετερότροφοι μικροοργανισμοί, παρατηρούμε καλή απονιτρωδοποιητική ικανότητα των πολυφωσφορικών βακτηριδίων, καθώς ήταν σε θέση να ανταπεξέλθουν στις μεταβολές της συγκέντρωσης των $\text{NO}_2\text{-N}$.



Σχήμα 4.6: Απονιτρωδοποιητική ικανότητα dN

4.3 Διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας

4.3.1 Περιγραφή πειραμάτων

Η διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας σε ανοξικές συνθήκες έγινε μέσω batch πειραμάτων. Εξετάστηκαν διάφορες συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου σε δύο σειρές πειραμάτων για $\text{pH} = 8$ και $\text{pH} = 8.5$, καθώς σε τέτοιες τιμές η αμμωνία είναι εν μέρει με τη μορφή της ελεύθερης αμμωνίας, ενώ αποτελούν πιθανές τιμές του pH των λυμάτων.

Αφού έγινε ένα δοκιμαστικό batch στο οποίο επιβεβαιώθηκε ότι τα DPAOs είχαν αναπτυχθεί επαρκώς και ήταν σε θέση να απομακρύνουν φώσφορο με ικανοποιητικό

ρυθμό, ξεκίνησαν οι δύο κύκλοι batch πειραμάτων. Η βιομάζα που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα αυτά προερχόταν από τον αντιδραστήρα SBR που περιγράφηκε πιο πάνω. Τόσο το pH, όσο και η θερμοκρασία των πειραμάτων επιδρούσε στη συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας γίνεται με την ακόλουθη εξίσωση (Anthonisen et al., 1976):

$$FA \left(\frac{\text{mgNH}_3 - \text{N}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{NH}_4 - \text{N}_{\text{ολικό}} \times 10^{\text{pH}}}{K_b/K_w + 10^{\text{pH}}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)$$

Όπου $K_b/K_w = e^{\frac{6344}{273+T(^{\circ}\text{C})}}$

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής: Με την εκκίνηση του πρώτου κύκλου λειτουργίας του SBR, δηλαδή μετά την αφαίρεση της εκροής, τη συμπλήρωση με νερό, πρωτοβάθμια λύματα και φώσφορο και την εκκίνηση της ανάδευσης, αφαιρούνται από το σύστημα 1500 ml λάσπης, πριν ξεκινήσει η τροφοδοσία για να μην περιέχεται μεγάλη ποσότητα αμμωνιακού αζώτου στη λάσπη. Τοποθετούνται σε 3 περιέκτες από 500 ml λάσπης στον καθένα και ρυθμίζεται το pH στη ζητούμενη τιμή. Ο ένας περιέκτης λειτουργεί ως πείραμα αναφοράς, δηλαδή Control (C), ώστε να προσδιοριστεί ο ρυθμός ανοξικής δέσμευσης του φωσφόρου χωρίς την παρουσία τοξικής ουσίας. Οι άλλοι δύο (A και B) δοκιμάζονται στις ίδιες συνθήκες για να έχουμε ακρίβεια στα αποτελέσματά μας λόγω επαναληψιμότητας των μετρήσεων. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος διατηρούνται σταθερά τόσο το pH (± 0.05), όσο και η θερμοκρασία ($\pm 1^{\circ}\text{C}$). Το pH ρυθμιζόταν κατάλληλα με αραιό διάλυμα θειικού οξέος (H_2SO_4) και καυστικού νατρίου (NaOH), ενώ η θερμοκρασία ρυθμιζόταν μέσω παγωμένων διηθητικών χαρτιών που τοποθετούνταν γύρω από τους περιέκτες όταν παρουσίαζε αύξηση στις τιμές της. Ήταν πολύ σημαντική η διατήρηση τους σε σταθερές τιμές, καθώς επηρεάζουν τη συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας, η οποία πρέπει να διατηρείται σταθερή για τη λήψη σωστών αποτελεσμάτων, αφού για την ίδια

συγκέντρωση αμμωνίας προκαλείται διαφορετικός βαθμός αναχαίτισης για διαφορετικό pH και διαφορετική θερμοκρασία. Επιπλέον, επιβεβαιωνόταν ότι η απομάκρυνση του φωσφόρου συνέβαινε λόγω βιολογικών διεργασιών και όχι χημικών (δηλαδή χημικής κατακρήμνισης).

Στους δύο αυτούς περιέκτες προστίθεται κατάλληλη ποσότητα αμμωνίας και αφήνονται για μία ώρα σε ανάδευση. Αυτός ο χρόνος απαιτείται για να ολοκληρωθούν κάποιες χημικές διεργασίες που σχετίζονται με την προσθήκη χημικών και τη μεταβολή που γίνεται στο pH λόγω της προσθήκης της αμμωνίας, και για να σταθεροποιηθεί το pH. Στη συνέχεια, ξεκινάει η αναερόβια φάση, αφού προστεθούν 2ml διαλύματος οξικού οξέος (CH_3COONa) συγκέντρωσης 50 g/L και στους 3 περιέκτες (αρχική συγκέντρωση περίπου 200 mg/L). Η επιλογή της συγκέντρωσης του οξικού οξέος υπολογίστηκε από την ταχύτητα κατανάλωσης της τροφής των πολυφωσφορικών βακτηρίων στην αναερόβια φάση του SBR. Η αναερόβια φάση διαρκεί μια ώρα, χρόνος αρκετός για να επιτευχθεί η υδρόλυση των πολυφωσφορικών ενώσεων για την πρόσληψη οργανικής τροφής και της μετατροπής της σε ενδοκυτταρικά PHAs. Έπειτα, ακολουθεί η ανοξική φάση, η έναρξη της οποίας γίνεται με την προσθήκη κατάλληλης ποσότητας νιτρωδών στους περιέκτες από διάλυμα νιτρώδους αζώτου συγκέντρωσης 5 g/L. Σκοπός είναι να διατηρηθεί η συγκέντρωση του $\text{NO}_2^- \text{ N}$ σταθερή στο εύρος 5 έως 10 mg/L, ώστε να είναι πάντα διαθέσιμο, χωρίς όμως να υπάρχει πολύ FNA. Για το λόγο αυτό, προστίθεται κατάλληλη ποσότητα νιτρωδών 10 και 20 λεπτά μετά τη λήψη δείγματος. Η διάρκεια της ανοξικής φάσης ήταν 2.5 ώρες.

Η δειγματοληψία αφορά λήψη δειγμάτων 20 ml ανά 30 λεπτά. Αφού περνούν από φυγοκέντρηση για 1 λεπτό, διηθούνται σε αντλία κενού, χρησιμοποιώντας μεμβράνες 0.45 μm . Είναι σημαντικό οι λήψεις των δειγμάτων να γίνονται σε πολύ γρήγορο ρυθμό, ώστε να μην επηρεάζονται τα δείγματα από τις διάφορες βιολογικές διεργασίες που συνεχίζουν να πραγματοποιούνται.

Εκτός από τα ορθοφωσφορικά που μετρούνται σε κάθε δείγμα, γίνεται υπολογισμός της συγκέντρωσης των νιτρωδών κατά τη διάρκεια του πειράματος, για να εξασφαλίζεται η

επάρκειά τους, ενώ σε κάποια δείγματα υπολογίζεται η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου, ώστε να επιβεβαιωθεί ότι η συγκέντρωσή του μένει σταθερή κατά την εκτέλεση του πειράματος και, άρα, η συνθήκες είναι όντως ανοξικές. Τέλος, στην αρχή του πειράματος λαμβάνονται 5 mL δείγματος απ' όλους τους περιέκτες για τον υπολογισμό των TSS και των VSS κάθε περιέκτη, ώστε να μπορεί να υπολογιστεί ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου.

Στη συνέχεια παρουσιάζεται αναλυτικά η συνολική πορεία ενός ενδεικτικού πειράματος. Η ίδια πορεία και η αντίστοιχη επεξεργασία των μετρήσεων ακολουθήθηκαν απ' όλα τα πειράματα batch. Οι μετρήσεις όλων των σχετικών πειραμάτων παρουσιάζονται στο Παράρτημα.

Ενδεικτικό πείραμα

Το συγκεκριμένο πείραμα υλοποιήθηκε στις 7/12/2020. Ο τρόπος διεξαγωγής του πειράματος είναι ακριβώς όπως περιγράφηκε πιο πάνω. Οι συνθήκες που επικράτησαν ήταν οι εξής:

Πίνακας 4.2: Συνθήκες πειράματος

Παράμετρος	Τιμή
Θερμοκρασία T	19.3 °C (± 1 °C)
pH	8.5 (± 0.05)
Συγκέντρωση NH ₄ -N	70 mg/L
Συγκέντρωση FA	9.01 mg/L

Χρησιμοποιήθηκαν 3 περιέκτες. Στον περιέκτη αναφοράς Control (C) δεν προστέθηκε αμμωνία, ενώ στους άλλους δύο περιέκτες, A και B, η συγκέντρωση της αμμωνίας διαμορφώθηκε στα 70 mg NH₄-N/L. Τόσο η θερμοκρασία, όσο και το pH παρέμειναν σταθερά και στους 3 περιέκτες καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Οι συνθήκες ήταν πρώτα αναερόβιες για 1 ώρα και μετά ανοξικές για 2.5 ώρες. Η συγκέντρωση του

αμμωνιακού αζώτου δεν μεταβλήθηκε, καθώς στις ανοξικές συνθήκες μεταβάλλονται τα νιτρώδη και όχι το αμμωνιακό άζωτο, και, άρα, η σταθερή συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου επιβεβαιώνει τη σωστή τήρηση των συνθηκών αυτών. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας έγινε βάση της εξίσωσης που αναφέρθηκε πιο πριν:

$$FA \left(\frac{\text{mgNH}_3 - \text{N}}{\text{L}} \right) = \frac{70 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 10^{8.5}}{\frac{6344}{e^{273+19,3(^{\circ}\text{C})}} + 10^{8.5}} = 7.42 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)$$

Η συγκέντρωση των πτητικών και ολικών στερεών κάθε περιέκτη υπολογίστηκε με τη λήψη δείγματος 5 ml όπως έχει περιγραφεί στις Αναλυτικές Μεθόδους (3.2.1).

Πίνακας 4.3: Συγκέντρωση TSS και VSS κάθε περιέκτη

Περιέκτης	TSS (g/L)	VSS (g/L)
C (Control)	5.08	3.22
A (NH₄ - N = 70 mg/l)	5.64	3.68
B (NH₄ - N = 70 mg/l)	5.20	3.36

Θεωρώντας ως χρόνο '0' την αρχή της ανοξικής φάσης, οι μετρήσεις σηματοδοτούνται ανάλογα, δηλαδή τα δείγματα που λήφθηκαν στην αρχή της αναερόβιας αφορούν το χρόνο '-1', τα δείγματα στο πρώτο μισάωρο της ανοξικής φάσης αφορούν το χρόνο '0.5' κ.ο.κ.. Στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 4.4) παρουσιάζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρωδών, ενώ στον Πίνακας 4.5 και το Σχήμα 4.7 παρουσιάζονται η μεταβολή της συγκέντρωσης των ορθοφωσφορικών κάθε περιέκτη για όλη τη διάρκεια του πειράματος.

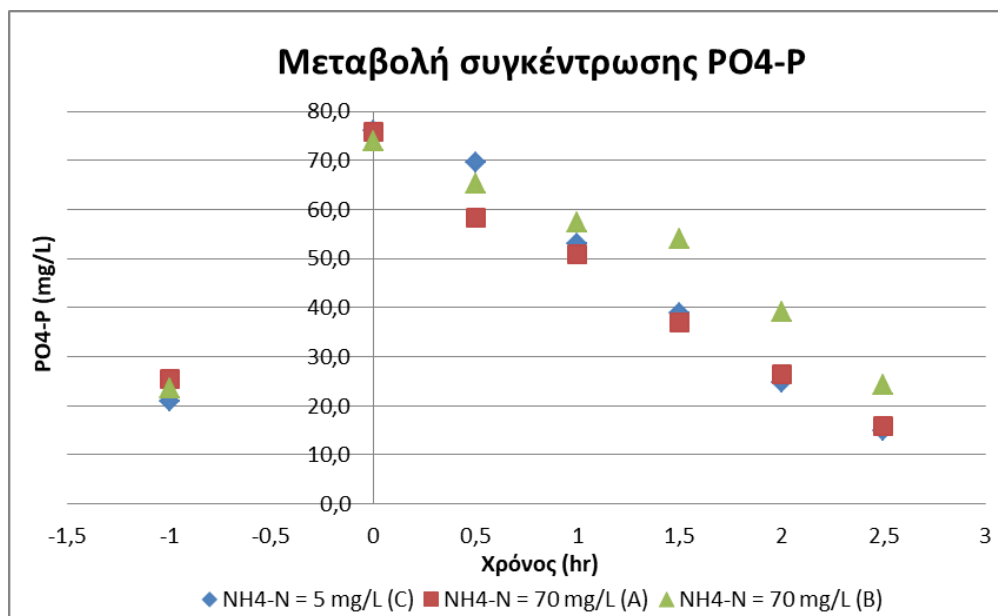
Πίνακας 4.4: Μεταβολή συγκέντρωσης NO₂-N (mg/L)

Χρόνος (t)	C (Control)	A (NH ₄ - N = 70 mg/l)	B (NH ₄ - N = 70 mg/l)
-1	0.3	0.35	0.3
0	11.7	11.45	11.75
0.5	6.65	5.3	4.9
1	4.2	4.7	4.6

1.5	4.35	4.9	4.55
2	5.5	9.2	7.1
2.5	5.15	8.7	6

Πίνακας 4.5: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P (mg/L)

Χρόνος (t)	C (Control)	A (NH ₄ – N = 70 mg/l)	B (NH ₄ – N = 70 mg/l)
-1	20.85	25.43	23.61
0	76.00	75.73	73.91
0.5	69.60	58.29	65.29
1	53.11	50.82	57.35
1.5	38.90	37.01	53.98
2	24.69	26.44	39.23
2.5	14.99	15.87	24.35



Σχήμα 4.7: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P

Παρατηρούμε ότι στις αναερόβιες συνθήκες η συγκέντρωση του φωσφόρου αυξάνεται. Αυτό συμβαίνει λόγω της υδρόλυσης των ενδοκυτταρικών πολυφωσφορικών αλυσίδων από

τα PAOs, για την εξασφάλιση της απαραίτητης ενέργεια για την πρόσληψη της οργανικής τροφής και το σχηματισμό των PHAs, που έχει σαν αποτέλεσμα την απελευθέρωση φωσφόρου από το κύτταρο, αυξάνοντας τη συγκέντρωση του διαλυμένου φωσφόρου στο υγρό. Στη συνέχεια, μέσω της οξείδωσης των αποθηκευμένων PHAs, που χρησιμοποιούνται ως πηγή ενέργειας και άνθρακα, επιτυγχάνεται η ανοξική πρόσληψη του φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια και ο εκ νέου σχηματισμός των πολυφωσφορικών αλυσίδων, μαζί με άλλες διεργασίες που εκτελούν τα βακτηρίδια (ανάπτυξη, συντήρηση κλπ). Έτσι, η συγκέντρωση του φωσφόρου μειώνεται.

Δεν παρατηρείται ιδιαίτερη διαφορά στο ρυθμό αύξησης φωσφόρου κατά την αναερόβια φάση μεταξύ του Control και των δύο περιεκτών A και B, οι οποίοι περιέχουν αμμωνία. Αυτό συνεπάγεται πως η αναερόβια έκλυση φωσφόρου και η υδρόλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων με στόχο την παραγωγή ενέργειας δεν επηρεάζονται από την ελεύθερη αμμωνία.

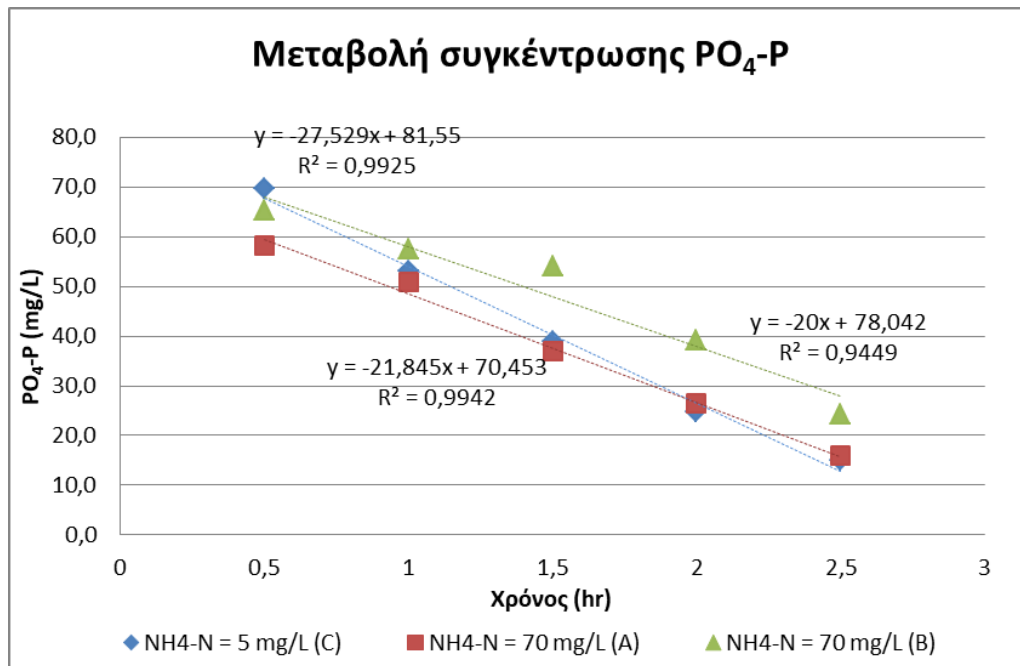
Ακολούθως, παρουσιάζεται η μεταβολή του COD στην αρχή και το τέλος της αναερόβιας φάσης (Πίνακας 4.6). Ο ρυθμός κατανάλωσης COD είναι ίδιος μεταξύ των 3 περιεκτών, υποδεικνύοντας πως η πρόσληψη οργανικής τροφής με στόχο την αποθήκευσή της ως PHAs είναι ανεξάρτητη από την τοξικότητα της ελεύθερης αμμωνίας.

Πίνακας 4.6: Μεταβολή συγκέντρωσης COD (mg/L)

	C (Control)	A (NH₄ – N = 70 mg/l)	B (NH₄ – N = 70 mg/l)
Αρχή αναερόβιας	194.8	197	195
Τέλος αναερόβιας	92	90	94
ΔCOD (mgCOD/gVSS/h)	38.94	38.77	36.59

Ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου PURanox υπολογίζεται από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του φωσφόρου προς τη μεταβολή του χρόνου και τη συγκέντρωση των πτητικών στερεών. Σημειώνεται ότι θεωρούμε προς το πρώτο μισάωρο η μείωση των ορθοφωσφορικών είναι αποτέλεσμα χημικής κατακρήμνισης και όχι βιολογικής

απομάκρυνσης, γι' αυτό ο ρυθμός υπολογίζεται στο υπόλοιπο χρονικό διάστημα της ανοξικής φάσης. Όσον αφορά τη μεταβολή της συγκέντρωσης προς το χρόνο για κάθε περιέκτη, αποτελεί την κλίση των αντίστοιχων διαγραμμάτων (Σχήμα 4.8).



Σχήμα 4.8: Κλίση της μεταβολής της συγκέντρωσης των PO₄-P

Ακολουθεί ο υπολογισμός των ανοξικών ρυθμών πρόσληψης φωσφόρου για κάθε περιέκτη.

$$PUR_C = \frac{dPO_4 - P}{dt} * \frac{1}{MLVSS} = 27.529 \frac{mgP}{hr} * \frac{1}{3.22gVSS} = \frac{8.55mgPO_4 - P}{gVSS * hr}$$

$$PUR_A = \frac{dPO_4 - P}{dt} * \frac{1}{MLVSS} = 21.845 \frac{mgP}{hr} * \frac{1}{3.68gVSS} = \frac{5.94mgPO_4 - P}{gVSS * hr}$$

$$PUR_B = \frac{dPO_4 - P}{dt} * \frac{1}{MLVSS} = 20.0 \frac{mgP}{hr} * \frac{1}{3.36gVSS} = \frac{5.95mgPO_4 - P}{gVSS * hr}$$

Ο βαθμός ανοξικής αναχαίτισης που προκαλεί η ελεύθερη αμμωνία στη δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων υπολογίζεται βάση των πιο πάνω ρυθμών αναχαίτισης. Αποτελεί την απόκλιση που παρατηρείται μεταξύ του ρυθμού PUR του περιέκτη αναφοράς C, που αφορά την ανοξική δέσμευση φωσφόρου απουσία τοξικής ουσίας, και των ρυθμών των A και B, που αφορούν το ρυθμό ανοξικής δέσμευσης φωσφόρου παρουσία της ελεύθερης αμμωνίας. Υπολογίζεται ως εξής:

$$\%inh_{\text{ανox}} = \frac{PUR_C - \left(\frac{PUR_A + PUR_B}{2}\right)}{PUR_C} * 100 = \frac{8.55 - \left(\frac{5.94 + 5.95}{2}\right)}{8.55} * 100 = 30.47\%$$

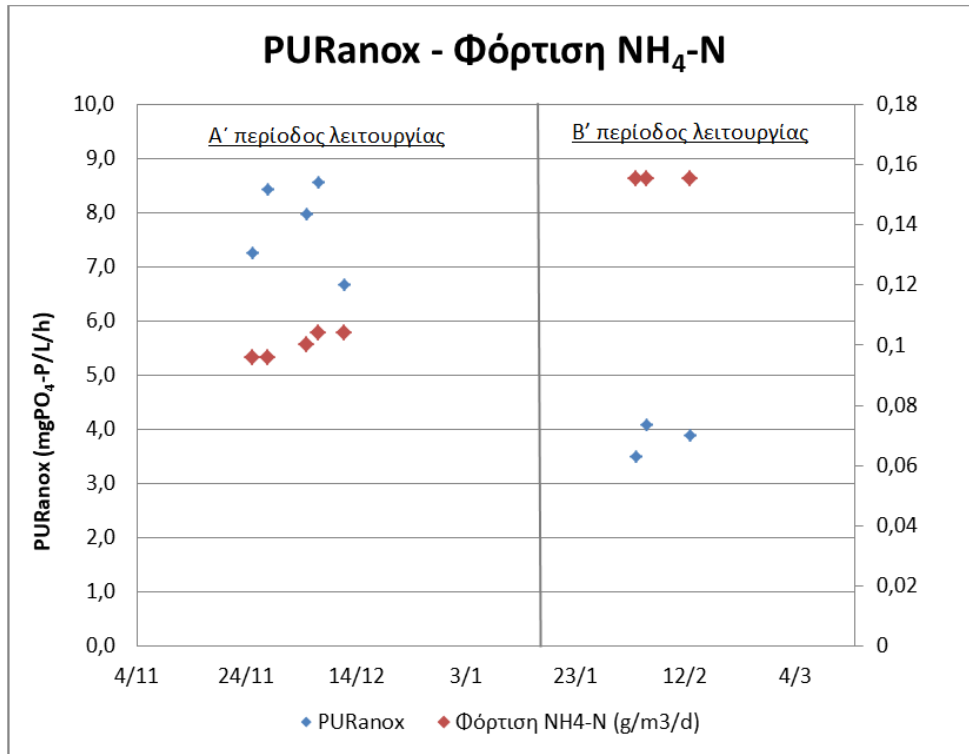
Άρα, σε συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας FA = 7.42 mg NH₃-N/L η ανοξική πρόσληψη φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια αναχαιτίζεται κατά 30.47%.

4.3.2 Αποτελέσματα πειραμάτων

Τα πειράματα διερεύνησης της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων ξεκίνησαν αφότου το σύστημα λειτουργούσε σε μόνιμες συνθήκες και είχε αναπτύξει ικανοποιητικό ρυθμό δέσμευσης φωσφόρου σε ανοξικές συνθήκες. Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων για σταθερό pH (± 0.05) και σταθερή θερμοκρασία (± 1°C). Οι δύο σειρές αφορούσαν διαφορετικές συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου και, άρα, διαφορετικές συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας σε pH = 8 και pH = 8.5. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται τα συνολικά αποτελέσματα της διερεύνησης.

4.3.2.1 Ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου

Ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου του συστήματος εκτιμήθηκε από το πείραμα αναφοράς (Control) των batch πειραμάτων που εκτελέστηκαν, χωρίς την παρουσία τοξικών ουσιών. Οι τιμές του κυμαίνονταν μεταξύ 3.5 και 9 mgPO₄-P/gVSS/h. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται συναρτήσε της εκάστοτε φόρτισης του συστήματος.

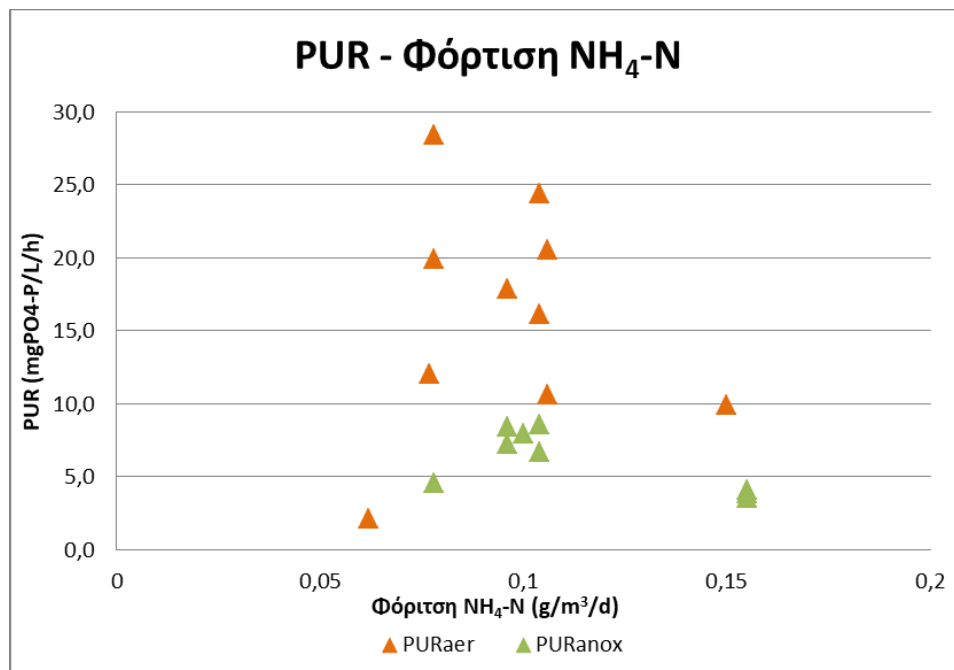


Σχήμα 4.9: Ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου συναρτήσει αμμωνιακής φόρτισης του συστήματος

Στο πιο πάνω σχήμα, είναι εμφανής η διαφορά των ανοξικών ρυθμών πρόσληψης φωσφόρου στις δύο περιόδους λειτουργίας του συστήματος. Παρατηρούμε ότι κατά την πρώτη περίοδο όπου η αμμωνιακή φόρτιση ήταν χαμηλότερη ($\approx 0.1 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3$), ο ρυθμός πρόσληψης ήταν ψηλότερος σε σχέση με τον αντίστοιχο ρυθμό κατά τη δεύτερη περίοδο λειτουργίας όπου η αμμωνιακή φόρτιση αυξήθηκε ($\approx 0.155 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3$). Συγκεκριμένα, αύξηση της φόρτισης κατά 50% οδήγησε σε αντίστοιχη μείωση του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης κατά περίπου 50%, δηλαδή από $7.8 \text{ mgPO}_4\text{-P/gVSS/h}$ στα $3.8 \text{ mgPO}_4\text{-P/gVSS/h}$.

Επιπλέον, ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης μελετήθηκε σε σχέση με τον αερόβιο ρυθμό πρόσληψης σε αντίστοιχα πειράματα που γίνονταν παράλληλα για αερόβιες συνθήκες (Καλοπίση, 2021). Προέκυψε ότι το PURanox αντιστοιχούσε στο 35 - 40% του PURaer καθ' όλη τη διάρκεια της λειτουργίας του συστήματος. Το ποσοστό αυτό θα μπορούσε να αντιστοιχεί στα PAOs που χρησιμοποιούν τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων και τα

οποία έχουν ταχύτητα απομάκρυνσης φωσφόρου ίση με την αερόβια, αν και υπάρχει πιθανότητα να υπάρχουν διαφορετικοί πληθυσμοί PAOs με διαφορετική ταχύτητα δέσμευσης φωσφόρου. Από την άλλη, αν θεωρήσουμε ότι όλα τα PAOs που αναπτύχθηκαν μπορούν να απονιτρωδοποιήσουν, ο μειωμένος ανοξικός ρυθμός πρόσληψης σε σχέση με τον αερόβιο θα υποδεικνύει ότι η χρήση των νιτρωδών ως αποδέκτη ηλεκτρονίων σε σχέση με τη χρήση του οξυγόνου συνεπάγεται πιο αργή διεργασία και πραγματοποιείται στο 35 - 40 % της αντίστοιχης ταχύτητας. Παρακάτω παρουσιάζονται οι ρυθμοί πρόσληψης συναρτήσει της εκάστοτε αμμωνιακής φόρτισης του συστήματος (Σχήμα 4.10).



Σχήμα 4.10: Αερόβιος και ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου συναρτήσει της αμμωνιακής φόρτισης

Στον πιο κάτω πίνακα αναφέρονται τιμές του ανοξικού και του αερόβιου ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου, καθώς και ποσοστά του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης ως προς τον αερόβιο (PURanox/PURaer) από διάφορες έρευνες. Προκύπτει ότι το εύρος που παρατηρήθηκε στην παρούσα εργασία είναι ανάλογο με τις τιμές τις βιβλιογραφίας, αν και

ο μέσος όρος των ποσοστών PURanox/PURaer είναι λίγο μικρότερος από την αντίστοιχη τιμή στις περισσότερες αναφορές.

Πίνακας 4.7: Σύγκριση PURanox/PURaer με τιμές της βιβλιογραφίας

PURanox (mgP/gVSS/h)	PURaer (mgP/gVSS/h)	PURanox / PURaer	Βιβλιογραφική αναφορά
3.5 – 9.0	10 - 25	35 – 40 %	Παρούσα εργασία
1.4 – 17.6	3.2 – 28.4	45%	Κούκουρα, 2020
2.62	3.96	66%	Zhang et al., 2020b
3.4	5.6	61%	Jabari et al., 2014
16.4	30	55%	Karagiannidis et al., 2013
14.1	22.1	64%	Karagiannidis et al., 2013
8.76	18.44	48%	Zhou et al., 2010a
6.75	18.44	37%	Zhou et al., 2010a
1.68	7.84	21%	Tsuneda et al., 2006
9.35	21.3	44%	Tsuneda et al., 2006
24.6	47.6	52%	Hu et al., 2003
20.4	9.6	47%	Shoji et al., 2003
22.4	11.1	50%	Shoji et al., 2003
1.2	5.7	21%	Kuba et al., 1997
1.6	3.8	42%	Kuba et al., 1997
6	13	46%	Kuba et al., 1997

4.3.2.2 Επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας (FA)

Στους ακόλουθους πίνακες παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις του αμμωνιακού αζώτου που μελετήθηκαν στα πειράματα που εκτελέστηκαν για pH = 8 και pH = 8.5, η αντίστοιχη συγκέντρωση σε όρους ελεύθερης αμμωνίας, η οποία υπολογίστηκε βάση της θερμοκρασίας, του pH και του αμμωνιακού αζώτου, όπως επίσης ο βαθμός αναχαίτισης του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης του φωσφόρου που προέκυψε κάθε φορά.

Πίνακας 4.8: Αποτελέσματα πειραμάτων για pH = 8

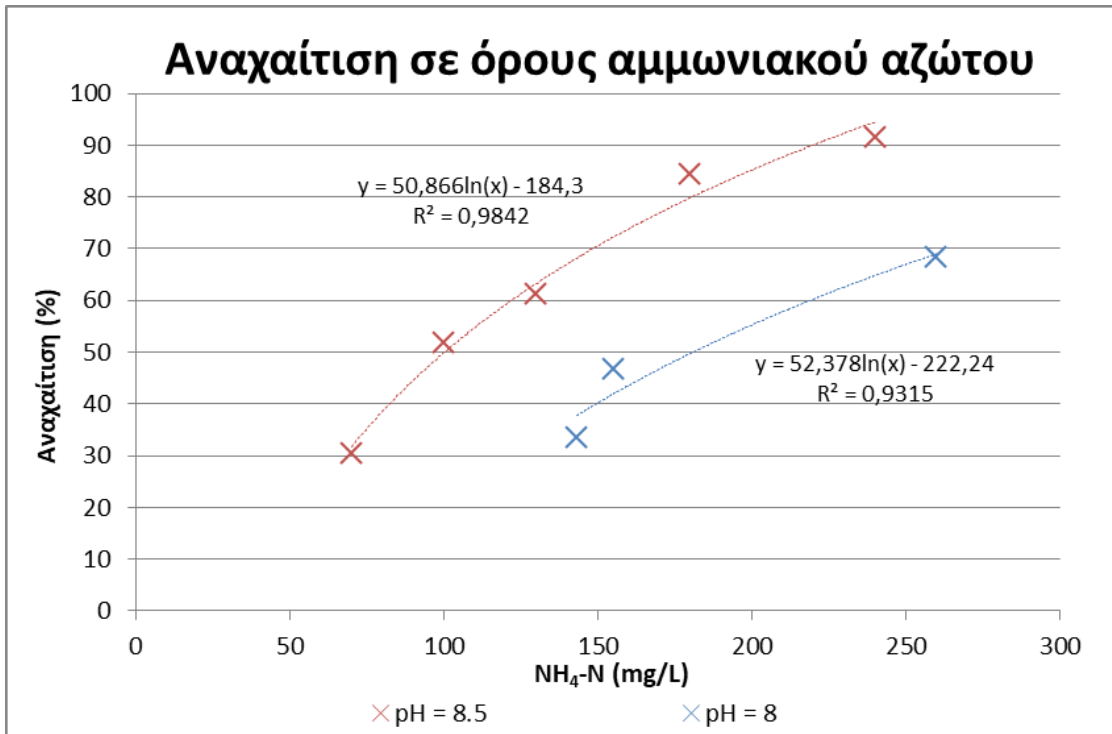
α/α	pH	T(°C)	Συγκέντρωση NH ₄ -N (mg/L)	Συγκέντρωση NH ₃ -N (mg/L)	Αναχαιτίωση inh (%)
1	8	19.5	140	5.13	33.46
2	8	19.4	160	5.83	46.83
3	8	19.5	260	9.54	68.36

Πίνακας 4.9: Αποτελέσματα πειραμάτων για pH = 8.5

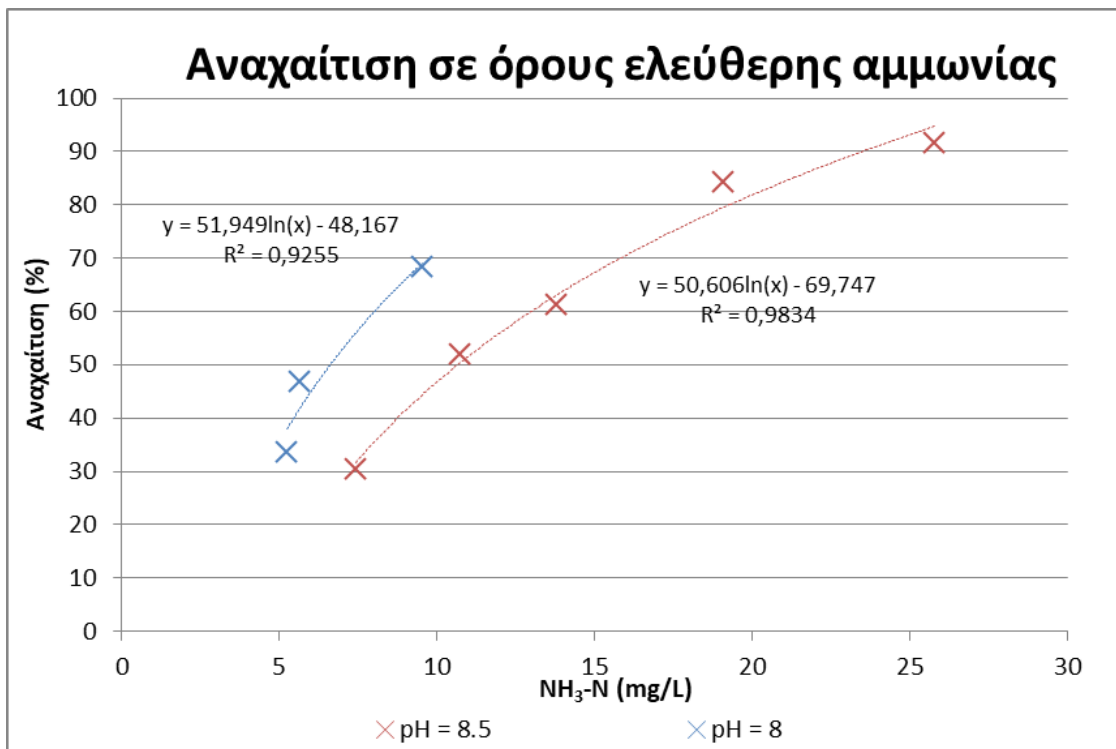
α/α	pH	T(°C)	Συγκέντρωση NH ₄ -N (mg/L)	Συγκέντρωση NH ₃ -N (mg/L)	Αναχαιτίωση inh (%)
1	8.5	19.3	70	7.42	30.47
2	8.5	19.5	100	10.75	51.87
3	8.5	19.3	130	13.79	61.13
4	8.5	19.4	180	19.09	84.34
5	8.5	19.5	240	25.79	91.57

Από τα πιο πάνω αποτελέσματα φαίνεται πως όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του αμμωνιακού αζώτου, ο βαθμός αναχαιτίωσης αυξάνεται. Το γεγονός αυτό ήταν αναμενόμενο λαμβάνοντας υπόψη ότι μαζί με την αύξηση του αμμωνιακού αζώτου συνεπάγεται αύξηση της ελεύθερης αμμωνίας, άρα τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια είναι εκτιθεμένα σε μεγαλύτερη τοξικότητα.

Στα πιο κάτω σχήματα (Σχήμα 4.11 και Σχήμα 4.12), παρουσιάζονται συνολικά τα αποτελέσματα από τα πειράματα που υλοποιήθηκαν από τις δύο σειρές πειραμάτων σε όρους αμμωνιακού αζώτου (NH₄-N), καθώς και η αναγωγή σε όρους ελεύθερης αμμωνίας (NH₃-N).



Σχήμα 4.11: Αναχαίτιση ανοξικού ρυθμού πρόσληψης για pH = 8.5 και pH = 8 σε όρους αμμωνιακού αζώτου



Σχήμα 4.12: Αναχαίτιση ανοξικού ρυθμού πρόσληψης για pH = 8.5 και pH = 8 σε όρους ελεύθερης αμμωνίας

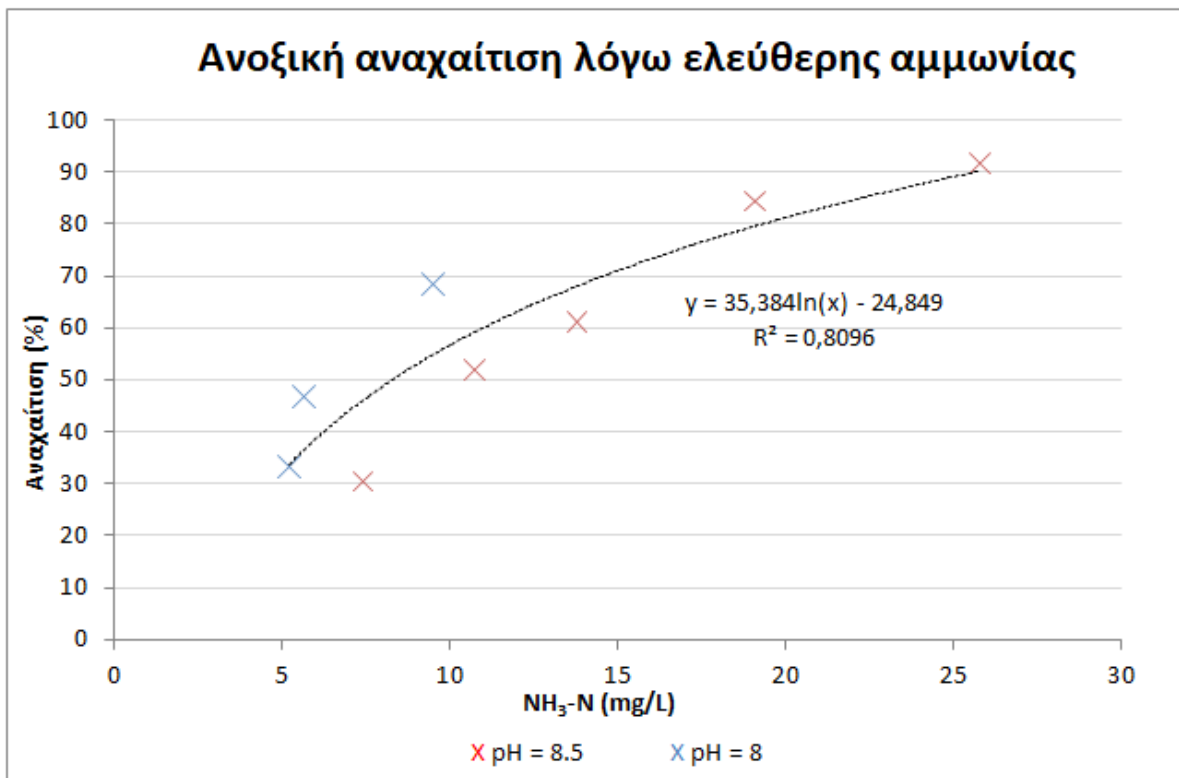
Η συσχέτιση μεταξύ του βαθμού αναχαίτισης και της συγκέντρωσης του αμμωνιακού αζώτου περιγράφεται με λογαριθμική καμπύλη (Σχήμα 4.11), ενώ το ίδιο συμβαίνει και όταν γίνεται αναγωγή σε όρους ελεύθερης αμμωνίας (Σχήμα 4.12).

Παρατηρώντας το Σχήμα 4.11, βλέπουμε πως για ίδιες συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου, σημειώνεται μεγαλύτερη αναχαίτιση σε ψηλότερο pH. Για παράδειγμα, βάση των εξισώσεων που περιγράφουν τις καμπύλες, στο pH = 8.5 σημειώνεται αναχαίτιση 50% για συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου περίπου ίση με 100 mg NH₄-N /L, ενώ στο pH = 8 η αντίστοιχη αναχαίτιση παρατηρείται όταν η συγκέντρωση διαμορφώνεται στα 180 mg NH₄-N /L. Ο συσχετισμός του βαθμού αναχαίτισης με το pH παρέχει μια σαφή ένδειξη ότι ο πραγματικός αναστολέας είναι η ελεύθερη αμμωνία, και όχι το αμμωνιακό άζωτο, καθώς όσο αυξάνεται το pH, αυξάνεται και η ποσότητα της ελεύθερης αμμωνίας. Ο ρυθμός αναχαίτισης είναι παρόμοιος για τις δύο τιμές pH και τα δύο διαγράμματα είναι παράλληλα, παρουσιάζοντας ικανοποιητική συμφωνία.

Όσον αφορά την αναγωγή σε όρους ελεύθερης αμμωνίας (Σχήμα 4.12), αυξανόμενης της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας αυξάνεται λογαριθμικά και ο βαθμός αναχαίτισης και για τις δύο τιμές pH. Φαινομενικά, η αναχαίτιση είναι μεγαλύτερη για τις ίδιες συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας σε pH = 8 συγκριτικά με το pH = 8.5. Αυτό δεν είναι λογικό και πιθανότητα προκύπτει λόγω επιπλέον τοξικότητας, η οποία δεν μπορούσε να εξαλείφει πλήρως. Ενδεχομένως η ταχύτητα πρόσληψης φωσφόρου να έχει μερικώς αναχαιτιστεί λόγω των νιτρικών που υπάρχουν στο υγρό του συστήματος. Στις μικρές συγκεντρώσεις της αμμωνίας, τα νιτρώδη έχουν μεγαλύτερη επιρροή στους μικροοργανισμούς. Συγκεκριμένα, για το pH = 8 τα νιτρώδη εμφανίζονται με τη μορφή του ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA), το οποίο, όπως αναφέρθηκε και πιο πριν, είναι τοξικό για τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια. Τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια ίσως να μην είχαν προλάβει να εγκλιματιστούν πλήρως στις συγκεντρώσεις του FNA του συστήματος. Καταλήγουμε στο συμπέρασμα πως η συνολική αναχαίτιση στο pH = 8 προκύπτει μεγαλύτερη επειδή ένα μέρος των πολυφωσφορικών βακτηριδίων έχει ήδη αναχαιτιστεί

από το FNA και είναι αναπόφευκτο να συμπεριληφθεί η αναχαίτιση αυτή, καθώς η FA και το FNA συνυπάρχουν και αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

Παραθέτοντας όλα τα αποτελέσματα των πειραμάτων για pH = 8 και pH = 8.5 σε ένα κοινό σχήμα, περιγράφεται με λογαριθμική καμπύλη η συσχέτιση μεταξύ του βαθμού αναχαίτισης και της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας σε ανοξικές συνθήκες (Σχήμα 4.13).



Σχήμα 4.13: Ανοξική αναχαίτιση πολυφωσφορικών βακτηριδίων λόγω ελεύθερης αμμωνίας

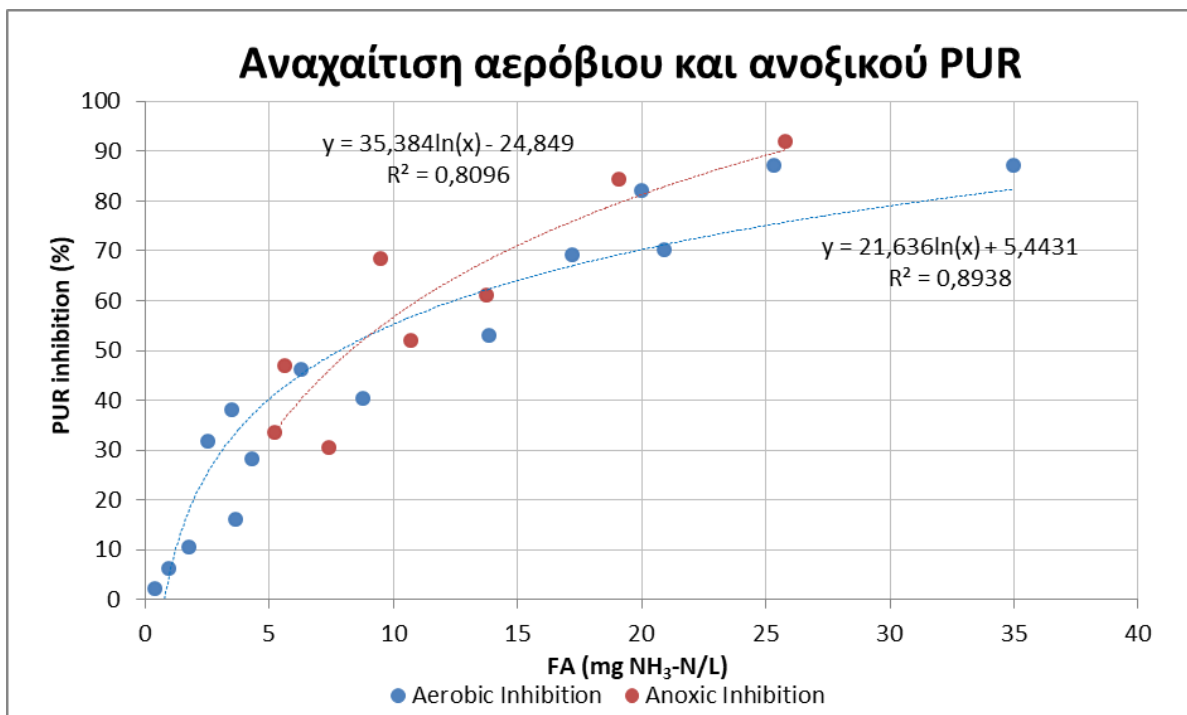
Τα αποτελέσματα συμπίπτουν ικανοποιητικά σε μια καμπύλη, ανεξαρτήτως του pH, αφού στον τύπο για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας περιλαμβάνεται η παράμετρος του pH. Όπως είναι λογικό, αυξανόμενης της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας, αυξάνεται και ο βαθμός αναχαίτισης.

Από την πιο πάνω εξίσωση προκύπτει ότι μια συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας περίπου ίση με 8 mg NH₃-N/L οδηγεί σε 50% αναχαίτιση του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου, ενώ η αντίστοιχη συγκέντρωση για αναχαίτιση μεγαλύτερη του 90% είναι τα 25 mg NH₃-N/L. Πλήρης αναχαίτιση (100%) επιτυγχάνεται όταν η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας ξεπεράσει τα 30 mg NH₃-N/L.

Η ταύτιση όλων των αποτελεσμάτων, ανεξαρτήτου του pH, σε μια καμπύλη, υποδεικνύει ότι ο αναχαιτιστικός παράγοντας στην ανοξική πρόσληψη φωσφόρου είναι πιθανότατα η ελεύθερη αμμωνία και όχι το αμμωνιακό άζωτο.

4.3.2.3 Σύγκριση ανοξικής και αερόβιας αναχαίτισης

Η ανασταλτική δράση της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δέσμευση φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια έχει επιβεβαιωθεί στην προηγούμενη ενότητα. Όσον αφορά την επίδρασή της στην αερόβια δέσμευση φωσφόρου, έχει ήδη μελετηθεί σε προηγούμενες εργασίες (Καλλή, 2019; Μυσιρλή, 2018). Στο επόμενο σχήμα παρουσιάζονται οι αναχαιτίσεις τόσο σε αερόβιες, όσο και σε ανοξικές συνθήκες.



Σχήμα 4.14: Αναχαίτιση αερόβιου και ανοξικού ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου (PUR) λόγω ελεύθερης αμμωνίας (FA)

Ο ρυθμός πρόσληψης σε ανοξικές και αερόβιες συνθήκες αποδεικνύεται να έχει παρόμοια ανοχή. Η αναχαίτισή του λόγω της τοξικότητας της ελεύθερης αμμωνίας παρουσιάζει πρακτικά την ίδια ευαισθησία, καθώς οι δύο καμπύλες φαίνεται να συγκλίνουν και να βρίσκονται σε ικανοποιητική συμφωνία. Στις μικρότερες συγκεντρώσεις FA (< 13 mg NH₃-N/L) υπάρχει μια μικρή μετατόπιση της καμπύλης του ανοξικού ρυθμού PUR, ο οποίος παρουσιάζει μεγαλύτερη ανοχή στην ελεύθερη αμμωνία, σημειώνοντας μικρότερους βαθμούς αναχαίτισης σε σχέση με τον αερόβιο PUR. Όσο η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας αυξάνεται, η ανοξική πρόσληψη φωσφόρου είναι πιο ευαίσθητη. Φαίνεται ότι στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, η ελεύθερη αμμωνία γίνεται πιο σημαντικός ανασταλτικός παράγοντας για τον ανοξικό PUR σε σχέση με τον αερόβιο, όμως, γενικά, οι δύο ρυθμοί έχουν αντίστοιχη συμπεριφορά στην τοξικότητα της FA.

Στη βιβλιογραφία δεν εντοπίστηκαν αντίστοιχες μελέτες που ερευνούσαν την επίδραση της ελεύθερης αμμωνίας στον ανοξικό ρυθμό απομάκρυνσης φωσφόρου, γι' αυτό τα

αποτελέσματα συγκρίνονται με αντίστοιχες μελέτες που έγιναν για αερόβιες συνθήκες (Πίνακας 4.10). Παρατηρούμε ότι η ανασταλτική συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας στη παρούσα εργασία είναι μεγαλύτερη για παρόμοιο βαθμό αναχαίτισης σε σχέση με τις περισσότερες από τις υπόλοιπες βιβλιογραφικές αναφορές, επιδεικνύοντας μεγαλύτερη αντοχή στην τοξικότητα της ελεύθερης αμμωνίας από τα DPAOs σε σχέση με τα PAOs.

Πίνακας 4.10: Σύγκριση συγκέντρωσης αναχαίτισης παρούσας εργασίας με τη βιβλιογραφία

Συνθήκες	Συγκέντρωση αναχαίτισης	Βαθμός αναχαίτισης	Βιβλιογραφική αναφορά
Ανοξικές	25.8 mg NH ₃ /L	>90%	Παρούσα εργασία
Αερόβιες	28.6 mg NH ₃ /L	>84%	Καλλή, 2019
	16 mg NH ₃ /L	>90%	Yang et al., 2018
	17.76 mg NH ₃ /L	-	Zheng et al., 2013a

4.4 Διερεύνηση του μηχανισμού αναχαίτισης

4.4.1 Μοντέλο αναχαίτισης

4.4.1.1 Γενικά

Ο τύπος του μοντέλου αναχαίτισης που περιγράφει την ανασταλτική δράση μιας ουσίας σε ένα μικροοργανισμό υποδηλώνει τον τρόπο που δεσμεύεται και η δρα η συγκεκριμένη ουσία, καθώς και τον τρόπο που ανταγωνίζεται η τροφή και ο αναχαιτιστικός παράγοντας για τις ενεργές θέσεις δέσμευσης του μικροοργανισμού.

Ο προσδιορισμός του τύπου αναχαίτισης βασίστηκε στην εξίσωση Michaelis-Menten. Η εξίσωση αυτή μπορεί να περιγράψει την κινητική των ενζυμικών αντιδράσεων, συνδέοντας

τη σταθερή ταχύτητα u και τη συγκέντρωση ενός υποστρώματος S . Η πιο γνωστή έκφραση αυτής της σχέσης είναι η ακόλουθη:

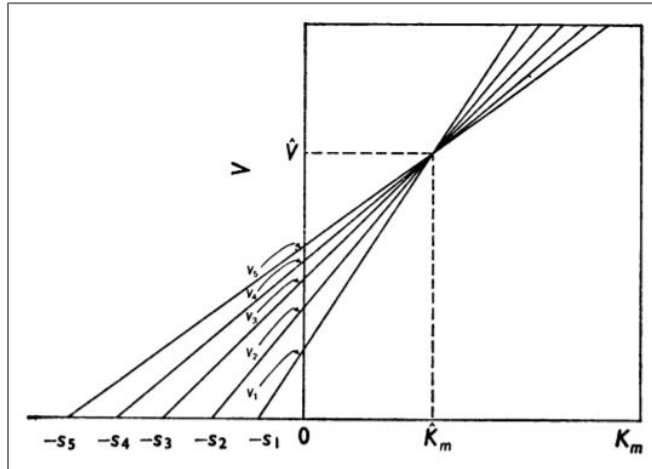
$$u = \frac{V * S}{K_m + S}$$

Όπου V : μέγιστη ταχύτητα

K_m : σταθερά Michaelis

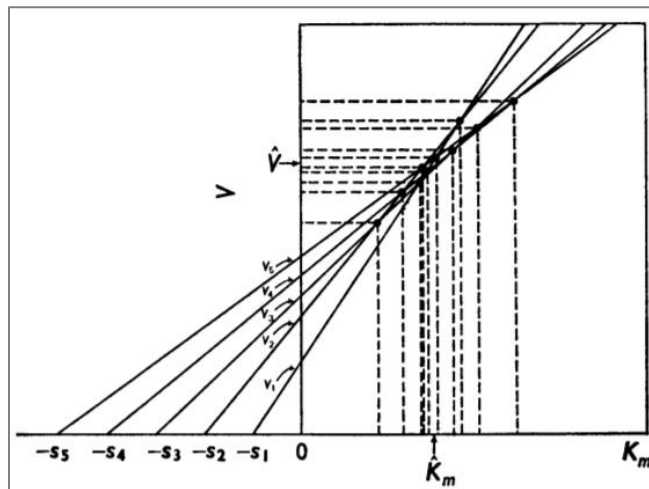
Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκε μια τροποποίηση της γραμμικής απεικόνισης των (Eisenthal et al., 1974), όπου τα πειραματικά δεδομένα απεικονίζονται ως γραμμές, αντί για σημεία. Σε σχέση με τις παραδοσιακές μεθόδους, αυτή η μέθοδος είναι πολύ απλή, γρήγορη και άμεση, καθώς αποτελείται εξ ολοκλήρου από ευθείες γραμμές, δεν απαιτεί κανέναν υπολογισμό οποιουδήποτε είδους και οι κινητικές σταθερές προκύπτουν απευθείας από το διάγραμμα. Παράλληλα, παρέχει σαφείς πληροφορίες σχετικά με την ποιότητα των μετρήσεων και προσδιορίζει τις αποκλίνουσες μετρήσεις, ενώ, όταν εφαρμοστεί επιτυχώς, μπορεί να εκτιμήσει με ακρίβεια και αμεροληψία τις κινητικές σταθερές.

Η εφαρμογή της μεθόδου φαίνεται στο ακόλουθο σχήμα (Σχήμα 4.15) και γίνεται ως εξής: Οι άξονες x και y αντιστοιχούν στις παραμέτρους K_m και V , ενώ οι μετρήσεις (s , v) αποτελούν σημεία στους άξονες, όπου $K_m = -s$ στον άξονα K_m και $V = v$ στο άξονα V . Ενώνοντας τα δύο σημεία δημιουργείται μια ευθεία. Τοποθετώντας όλες τις μετρήσεις στους άξονες και δημιουργώντας τις αντίστοιχες ευθείες, το σημείο τομής όλων των γραμμών αποτελεί τις συντεταγμένες των βέλτιστων τιμών για τις παραμέτρους K_m και V .



Σχήμα 4.15: Προσδιορισμός των βέλτιστων τιμών των παραμέτρων K_m και V (Eisenthal et al., 1974)

Στην πράξη, σε ένα πραγματικό πείραμα, λόγω των διάφορων πειραματικών σφαλμάτων, δεν είναι εφικτός ο καθορισμός ενός μοναδικού σημείου τομής των ευθειών, αλλά, αντίθετα, οι ευθείες τέμνονται σε διαφορετικά σημεία και όχι όλες μεταξύ τους (Σχήμα 4.16). Σε τέτοιες περιπτώσεις λαμβάνεται η μέση τιμή των φαινομενικών τιμών V και K_m .



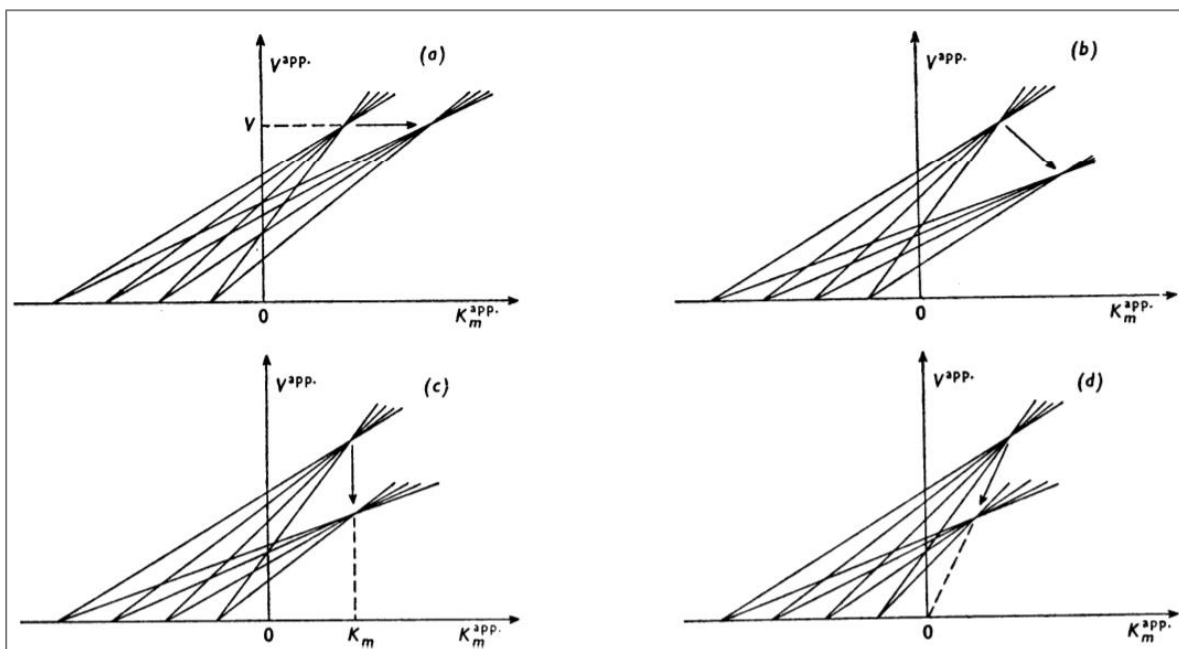
Σχήμα 4.16: Επίδραση πειραματικών σφαλμάτων (Eisenthal et al., 1974)

Οι απλές εξισώσεις για την περιγραφή του αναχαιτιστικού μηχανισμού γράφονται ως εξής:

$$v = \frac{V^{app} * S}{K_m^{app} + S}$$

όπου V^{app} και K_m^{app} είναι οι φαινομενικές τιμές των V και K_m και εξαρτώνται από διάφορες σταθερές μεταβλητές (συγκέντρωση αναστολέα, pH κλπ), ενώ το S αλλάζει. Από το άμεσο γραμμικό διάγραμμα που προκύπτει μπορεί να προσδιοριστούν οι τιμές των V^{app} και K_m^{app} .

Ο τρόπος με τον οποίο αλλάζουν οι τιμές V^{app} και K_m^{app} είναι συνάρτηση του αναχαιτιστικού μηχανισμού που εφαρμόζεται. Ο διαχωρισμός για το εάν ο μηχανισμός αναχαίτισης είναι competitive, non – competitive, uncompetitive ή mixed είναι πολύ απλός από το διάγραμμα που σχηματίζεται, ανάλογα με τον τρόπο που μετατοπίζεται το σημείο τομής των ευθειών. Στη συνέχεια, παρουσιάζεται ο διαχωρισμός αυτός (Σχήμα 4.17).



Σχήμα 4.17: Μετατόπιση σημείου τομής για διάφορους μηχανισμούς αναχαίτισης (a) competitive (b) mixed (c) non – competitive (d) uncompetitive (Eisenthal et al., 1974)

Σημειώνεται ότι στην πραγματικότητα, λόγω της δυσκολίας της εύρεσης ενός σημείου τομής, η ξεκάθαρη κατεύθυνση στην οποία μετατοπίζεται το σημείο τομής δεν μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια, οπότε ίσως είναι δύσκολος ο διαχωρισμός του mixed competitive με τους υπόλοιπους ‘καθαρούς’ τύπους αναχαίτισης.

4.4.1.2 Εφαρμογή για τον προσδιορισμό του αναχαιτιστικού μηχανισμού

Προσαρμόζοντας όλα τα πιο πάνω για τον προσδιορισμό του αναχαιτιστικού μηχανισμού του ελεύθερου νιτρώδους οξέος και της ελεύθερης αμμωνίας στον ανοξικό ρυθμό πρόσληψης φωσφόρου PUR, εφαρμόστηκε η πιο κάτω εξίσωση:

$$PUR = PUR_{\max}^{\text{app}} \frac{S}{K_m^{\text{app}} + S}$$

Όπου PUR: ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου από τα batch πειράματα

S: συγκέντρωση φωσφόρου στην αρχή των πειραμάτων

PUR_{\max}^{app} : μέγιστος φαινομενικά ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου

K_m^{app} : σταθερά κορεσμού

Οι τις τιμές των PUR_{\max}^{app} και K_m^{app} που θα προκύψουν αντιπροσωπεύουν την ανασταλτική επίδραση του FNA και της FA. Ο γραμμικός μετασχηματισμός της πιο πάνω εξίσωσης οδηγεί στην ακόλουθη σχέση:

$$PUR_{\max}^{\text{app}} = \frac{PUR}{S} K_m^{\text{app}} + PUR$$

Πραγματοποιούνται πειράματα για διαφορετικές συγκεντρώσεις FNA και της FA. Οι τιμές του ρυθμού PUR και της αρχικής συγκέντρωσης S είναι γνωστές από κάθε πείραμα batch, επομένως δημιουργούν μια ευθεία γραμμή με κλίση PUR/S. Τοποθετώντας στους άξονες x και y διάφορες τιμές των K_m^{app} και PUR_{\max}^{app} σχηματίζεται η αντίστοιχη ευθεία. Εφαρμόζοντας το ίδιο για κάθε πείραμα οι γραμμές θεωρητικά τέμνονται σε ένα κοινό σημείο, οι συντεταγμένες του οποίου δίνουν τις καλύτερες τιμές για το PUR_{\max}^{app} (y-άξονας) και K_m^{app} (x-άξονας).

Ωστόσο, επειδή αυτό το σημείο είναι δύσκολο να προσδιοριστεί, οι τιμές των παραμέτρων K_m και PUR_{\max} υπολογίζονται αλγεβρικά βάση των εξισώσεων που προκύπτουν. Χρησιμοποιείται η μέση τιμή των φαινομενικών τιμών των K_m και PUR_{\max} . Προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν τα σφάλματα των τιμών αυτών, η παραπάνω διαδικασία συνδυάστηκε με έναν απλό στατιστικό προσδιορισμό βέλτιστης προσαρμογής της τιμής K_m^{app} που είχε ως

αποτέλεσμα το μικρότερο άθροισμα των τετραγώνων των διαφορών (Sum of Squared estimate of Errors – SSE) μεταξύ των τιμών του PUR_{max}^{app} , που προκύπτουν για κάθε πείραμα και της μέσης τιμής των PUR_{max}^{app} όλων των πειραμάτων, δηλαδή:

$$SSE = \sum_{i=1}^n ((y_i - f(x_i))^2$$

Στη συνέχεια, περιγράφονται αναλυτικά τα πειράματα που υλοποιήθηκαν, καθώς και τα αποτελέσματα από την εφαρμογή της πιο πάνω διαδικασίας.

4.4.2 Περιγραφή πειραμάτων

Πραγματοποιήθηκαν 3 πειράματα για το προσδιορισμό του μηχανισμού αναχαίτισης λόγω της ελεύθερης αμμωνίας και 3 αντίστοιχα πειράματα για το ελεύθερο νιτρώδες οξύ. Επικρατούσαν συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας $T = 19.5 \text{ }^\circ\text{C}$ και σταθερού $\text{pH} = 8$.

Όπως και στα προηγούμενα batch που περιγράφηκαν, ήταν σημαντική η διατήρηση του pH (± 0.05) και της θερμοκρασίας ($\pm 1^\circ\text{C}$) σε σταθερές τιμές για να διατηρείται σταθερή η συγκέντρωση της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδες οξέος. Το pH ρυθμιζόταν κατάλληλα με αραιό διάλυμα θεικού οξέος (H_2SO_4) και καυστικού νατρίου (NaOH) και η θερμοκρασία μέσω παγωμένων διηθητικών χαρτιών που τοποθετούνταν γύρω από τους περιέκτες όταν παρουσίαζε αύξηση στις τιμές της.

Μόλις είχε γίνει η απομάκρυνση της εκροής και η σχετική συμπλήρωση με νερό και πρωτοβάθμια (αλλά όχι με φώσφορο), αφαιρούνται από το σύστημα κατάλληλη ποσότητα λάσπης, η οποία χωριζόταν σε 3 περιέκτες και αραιωνόταν με νερό βρύσης, καθώς εκείνο το διάστημα που εκτελέστηκαν τα πειράματα τα PAOs είχαν αναπτύξει μεγάλη ταχύτητα απομάκρυνσης φωσφόρου και για να εκτιμηθεί η πραγματική επίδραση της κάθε συγκέντρωσης έπρεπε να έχουμε την αρχική ταχύτητα. Ο ένας περιέκτης λειτουργεί ως Control (C) χωρίς περαιτέρω προσθήκη φωσφόρου, ο περιέκτης A λειτουργούσε με την

προσθήκη μικρής ποσότητας φωσφόρου και ο περιέκτης Β με την προσθήκη μεγάλης ποσότητας φωσφόρου.

Στην περίπτωση του ελεύθερου νιτρώδες οξέος χρησιμοποιήθηκαν 200 mL λάσπη και 300 mL νερό σε κάθε περιέκτη. Το πείραμα ξεκινούσε με την προσθήκη 1 mL οξικού οξέος, το οποίο σηματοδοτούσε την έναρξη της αναερόβιας φάσης, η οποία διαρκούσε 1 ώρα. Έπειτα, προστίθεται κατάλληλη ποσότητα νιτρωδών για την ανοξική φάση, η οποία είχε διάρκεια 2 ώρες και λαμβάνονταν δείγματα κάθε μισή ώρα. Για κάθε δείγμα μετριόταν η συγκέντρωση των νιτρωδών και των ορθοφωσφορικών, ενώ υπολογίζονταν τα ολικά και τα πτητικά αιωρούμενα στερεά των περιεκτών λαμβάνοντας 10 mL δείγματος απ' όλους τους περιέκτες στην αρχή του πειράματος. Τα 3 πειράματα αφορούσαν μικρή, μεγάλη και πολύ μικρή συγκέντρωση νιτρωδών, ενώ σημειώνεται ότι, όσον αφορά τη τελευταία, η διάρκεια της ανοξικής ήταν 1 ώρα και τα δείγματα λαμβάνονταν ανά 15 λεπτά, αφού κρίθηκε ότι αυτός ο χρόνος ήταν αρκετός για να προκύψουν τα απαραίτητα αποτελέσματα. Οι συγκεντρώσεις των νιτρωδών που μελετήθηκαν ήταν 10, 40 και 120 mg NO₂-N/L. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του ελεύθερου νιτρώδες οξέος γίνεται με την ακόλουθη εξίσωση (Anthonisen et al., 1976):

$$FNA \left(\frac{\text{mgHNO}_2}{\text{L}} \right) = \frac{\text{NO}_2 - N_{\text{ολικό}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)}{K_a \times 10^{\text{pH}}}$$

Όπου K_a : σταθερά ιονισμού της εξίσωσης ισορροπίας νιτρωδών, $K_a = e^{\frac{-2300}{273+T(^{\circ}\text{C})}}$

Στην περίπτωση της ελεύθερης αμμωνίας η λάσπη που χρησιμοποιήθηκε ήταν λιγότερη, καθώς εκείνη την περίοδο η συγκέντρωση των VSS του συστήματος ήταν μεγαλύτερη (3.7 g/L έναντι 2.1 g/L). Έτσι, προστέθηκαν 100 mL και 300 mL νερό σε κάθε περιέκτη. Επικρατούσαν αναερόβιες συνθήκες για 1 ώρα και ανοξικές για 2 ώρες. Η έναρξη της αναερόβιας γινόταν με προσθήκη 0.5 mL οξικού οξέος, ενώ πριν την ανοξική προστέθηκε κατάλληλη συγκέντρωση νιτρωδών. Η δειγματοληψία γινόταν κάθε 20 λεπτά κατά τη πρώτη ώρα της ανοξικής φάσης και κάθε μισή ώρα κατά τη δεύτερη. Σημειώνεται ότι δινόταν το χρονικό διάστημα της 1 ώρας μόλις εισαγόταν η αμμωνία στους περιέκτες μέχρι να

προσαρμοστούν οι μικροοργανισμοί και να ολοκληρωθούν κάποιες χημικές διεργασίες που σχετίζονται με την προσθήκη χημικών και τη μεταβολή που γίνεται στο pH λόγω της προσθήκης της αμμωνίας. Στις 3 μέρες που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα προστέθηκε μικρή, μεγάλη και μηδενική ποσότητα NH₄-N και υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις των ορθοφωσφορικών και της ελεύθερης αμμωνίας, καθώς και τα TSS και τα VSS κάθε περιέκτη. Οι συγκεντρώσεις της αμμωνίας που μελετήθηκαν ήταν 0, 67 και 340 mg NH₄-N/L. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας γίνεται με την ακόλουθη εξίσωση (Anthonisen et al., 1976):

$$FA \left(\frac{\text{mgNH}_3 - \text{N}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{NH}_4 - \text{N}_{\text{ολικό}} \times 10^{\text{pH}}}{K_b/K_w + 10^{\text{pH}}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)$$

Όπου $K_b/K_w = e^{\frac{6344}{273+T(^{\circ}\text{C})}}$

Στη συνέχεια παρουσιάζεται αναλυτικά η συνολική πορεία ενός ενδεικτικού πειράματος. Η ίδια πορεία και η αντίστοιχη επεξεργασία των μετρήσεων ακολουθήθηκαν απ' όλα τα πειράματα batch. Οι μετρήσεις όλων των σχετικών πειραμάτων παρουσιάζονται στο Παράρτημα.

Ενδεικτικό πείραμα

Το συγκεκριμένο πείραμα αφορά το μηχανισμό αναχαίτισης των PAOs λόγω του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Ο τρόπος διεξαγωγής του πειράματος είναι ακριβώς όπως περιγράφηκε πιο πάνω. Οι συνθήκες που επικράτησαν ήταν οι εξής:

Πίνακας 4.11: Συνθήκες πειράματος

Παράμετρος	Τιμή
Θερμοκρασία T	19.5 °C (±1 °C)
pH	8 (±0.05)
Συγκέντρωση NO ₂ -N	40 mg/L

Συγκέντρωση FNA	1 μg/L
-----------------	--------

Χρησιμοποιήθηκαν 3 περιέκτες. Στον περιέκτη αναφοράς Control (C) δεν προστέθηκε φώσφορος, ενώ στους άλλους δύο περιέκτες, A και B, προστέθηκαν 2 και 4 ml φωσφόρου, αντίστοιχα. Η θερμοκρασία και το pH παρέμειναν σταθερά καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Οι περιέκτες έμειναν 1 ώρα σε αναερόβιες συνθήκες και 2 ώρες σε ανοξικές. Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος έγινε βάση της εξίσωσης που αναφέρθηκε πιο πριν:

$$FNA \left(\frac{\mu\text{gHNO}_2}{\text{L}} \right) = \frac{40 \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right)}{e^{\frac{-2300}{273+19.5(\text{C})}} \times 10^8} * 1000 = 1 \mu\text{g/L}$$

Η συγκέντρωση των πτητικών και ολικών στερεών κάθε περιέκτη υπολογίστηκε με τη λήψη δείγματος 10 ml όπως έχει περιγραφεί στις Αναλυτικές Μεθόδους (3.2.1).

Πίνακας 4.12: Συγκέντρωση TSS και VSS κάθε περιέκτη

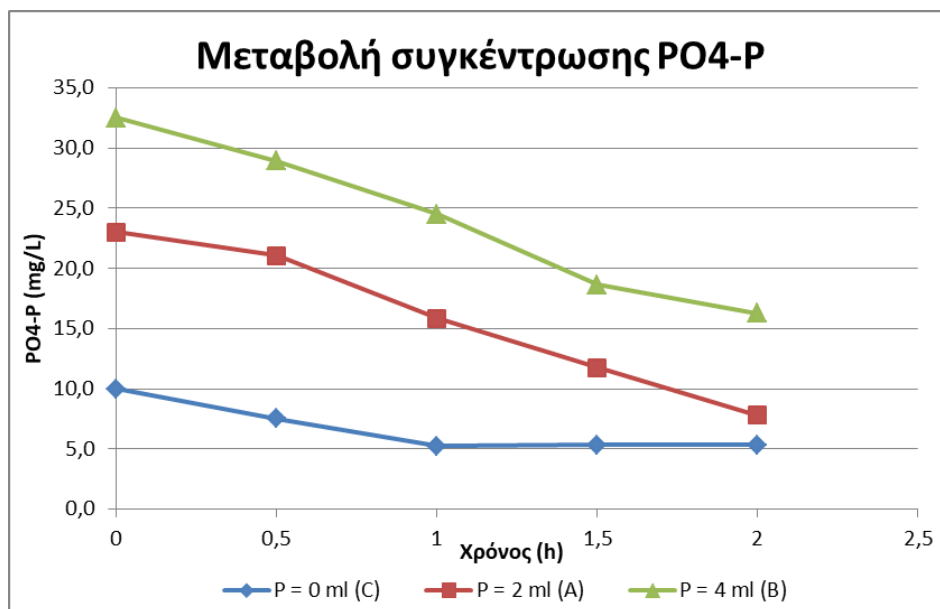
Περιέκτης	TSS (g/L)	VSS (g/L)
C (P = 0 ml)	1.70	1.10
A (P = 2 ml)	1.74	1.12
B (P = 4 ml)	2.00	1.26

Θεωρώντας χρόνο '0' την αρχή της ανοξικής φάσης, οι μετρήσεις σηματοδοτούνται ανάλογα, δηλαδή τα δείγματα που λήφθηκαν στο πρώτο μισάωρο της ανοξικής φάσης αφορούν το χρόνο '0.5' κ.ο.κ.. Στον ακόλουθο πίνακα (Πίνακας 4.13) και το ακόλουθο σχήμα (Σχήμα 4.18) παρουσιάζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης των ορθοφωσφωρικών κάθε περιέκτη για όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 4.13: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P (mg/L)

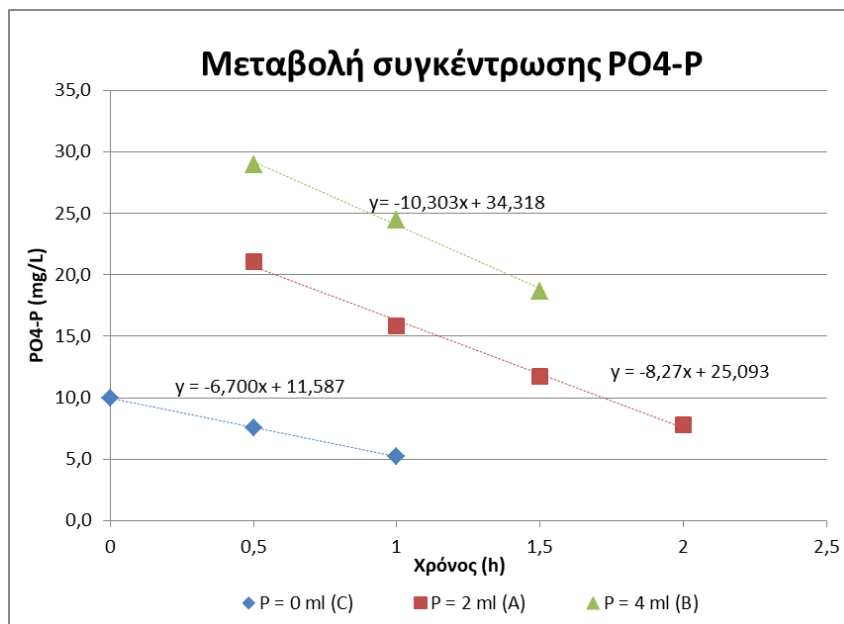
Χρόνος (t)	C	A	B
0	10.0	23.0	32.5

0.5	7.5	21.1	28.9
1	5.2	15.9	24.5
1.5	5.3	11.8	18.6
2	5.3	7.8	16.3



Σχήμα 4.18: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P

Παρατηρούμε πως η συγκέντρωση των ορθοφωσφορικών μειώνεται, καθώς επιτυγχάνεται η ανοξική πρόσληψη του φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια. Όσο πιο μεγάλη είναι η αρχική συγκέντρωση του φωσφόρου, τόσο πιο απότομη είναι η μείωση. Ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου PURanox υπολογίζεται από τη μεταβολή της συγκέντρωσης του φωσφόρου προς τη μεταβολή του χρόνου και τη συγκέντρωση των πτητικών στερεών. Η μεταβολή της συγκέντρωσης προς το χρόνο για κάθε περιέκτη, αποτελεί την κλίση του γραμμικού μέρους των αντίστοιχων διαγραμμάτων, όπως παρουσιάζονται πιο κάτω (Σχήμα 4.19).



Σχήμα 4.19: Κλίση της μεταβολής της συγκέντρωσης των PO₄-P

Ακολουθεί ο υπολογισμός των ανοξικών ρυθμών πρόσληψης φωσφόρου για κάθε περιέκτη.

$$PUR_C = \frac{dPO_4 - P}{dt} * \frac{1}{MLVSS} = 6.70 \frac{mgP}{hr} * \frac{1}{1.1gVSS} = \frac{6.1mgP}{gVSS * hr}$$

$$PUR_A = \frac{dPO_4 - P}{dt} * \frac{1}{MLVSS} = 8.727 \frac{mgP}{hr} * \frac{1}{1.12gVSS} = \frac{7.8mgP}{gVSS * hr}$$

$$PUR_B = \frac{dPO_4 - P}{dt} * \frac{1}{MLVSS} = 10.303 \frac{mgP}{hr} * \frac{1}{1.26gVSS} = \frac{8.2mgP}{gVSS * hr}$$

Βάση των πιο πάνω ρυθμών πρόσληψης φωσφόρου και των αρχικών συγκεντρώσεων φωσφόρου στους περιέκτες, διαμορφώνονται οι αντίστοιχες εξισώσεις για το μηχανισμό αναχαίτισης, όπως περιγράφηκαν στην προηγούμενη ενότητα, σχηματίζοντας για κάθε περιέκτη μια ευθεία γραμμή με κλίση PUR/S. Στους άξονες x και y τοποθετούνται οι αντίστοιχες τιμές των K_m^{app} και PUR_{max}^{app} .

$$\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{C} = \frac{6.1}{10} K_m^{\text{app}}, \text{C} + 6.1 = 0.61 K_m^{\text{app}}, \text{C} + 6.1$$

$$\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{A} = \frac{7.8}{23} K_m^{\text{app}}, \text{C} + 7.8 = 0.33 K_m^{\text{app}}, \text{A} + 7.8$$

$$\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{B} = \frac{8.2}{32.5} K_m^{\text{app}}, \text{C} + 8.2 = 0.25 K_m^{\text{app}}, \text{B} + 8.2$$

Ο υπολογισμός της τιμής της σταθεράς K_m^{app} προέκυψε αλγεβρικά, καθώς, όπως αναφέρθηκε και πιο πριν, ο εντοπισμός ενός μοναδικού σημείου τομής των ευθειών είναι δύσκολος λόγω πειραματικών σφαλμάτων. Στόχος ήταν η ελαχιστοποίηση του αθροίσματος των τετραγώνων των σφαλμάτων (SSE) μεταξύ των τιμών του $\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}$, που προέκυψαν από τις πιο πάνω εξισώσεις για κάθε πείραμα batch και της μέσης τιμής των $\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}$ των τριών πειραμάτων, δηλαδή:

$$\text{SSE} = (\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{A} - \text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{Mean})^2 + (\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{B} - \text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{Mean})^2 + (\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{C} - \text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}, \text{Mean})^2$$

Βάση αυτού, η τιμή του K_m^{app} προέκυψε ίση με 6.2 mg/L, με $\text{SSE} = 0.01$. Όσον αφορά τα $\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}$ των 3 περιεκτών, παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα μαζί με τη μέση τιμή τους, η οποία αποτελεί και την τελική τιμή του $\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}$, και τη τυπική διακύμανσή τους.

Πίνακας 4.14: Αποτελέσματα πειράματος

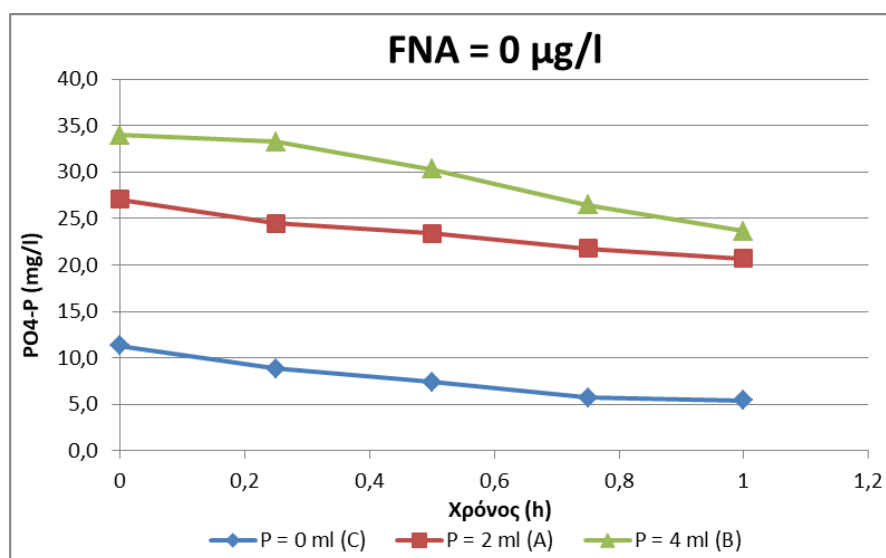
	$\text{PUR}_{\text{max}}^{\text{app}}$ (mg PO ₄ -P/gVSS/h)
C (P = 0 ml)	9.87
A (P = 2 ml)	9.89
B (P = 4 ml)	9.74
Μέση τιμή	9.83
Τυπική διακύμανση	0.08

4.4.3 Αποτελέσματα πειραμάτων

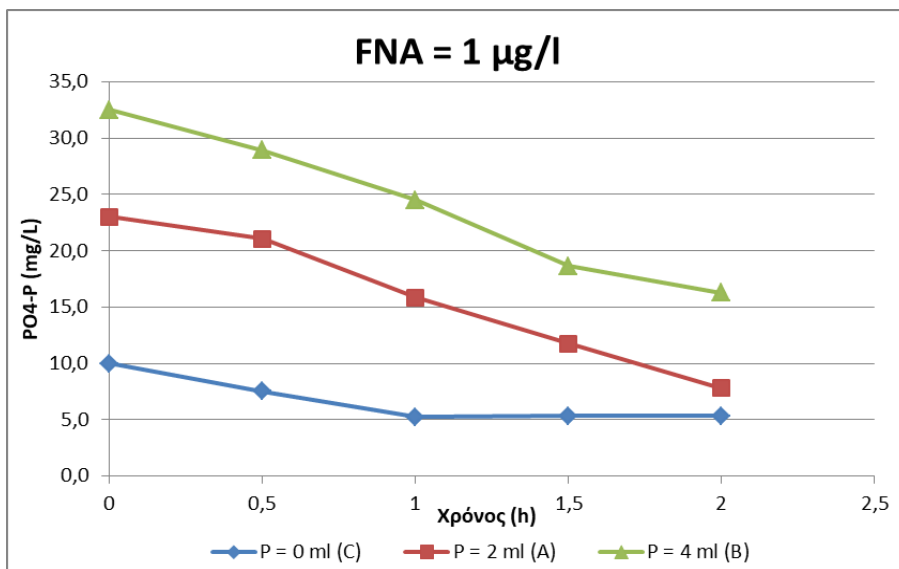
Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων για σταθερό pH = 8 (± 0.05) και σταθερή θερμοκρασία T = 19.5 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$). Οι δύο σειρές αφορούσαν την διερεύνηση του μηχανισμού αναχαίτισης των πολυφωσφορικών βακτηριδίων λόγω της ελεύθερης αμμωνίας και λόγω του ελεύθερου νιτρώδους οξέος. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα των πειραμάτων. Η μεθοδολογία και η επεξεργασία των αποτελεσμάτων που πραγματοποιήθηκαν για κάθε πείραμα, ήταν ίδια με το πείραμα που περιγράφηκε πιο πάνω.

4.4.3.1 Αναχαίτιση λόγω ελεύθερου νιτρώδους οξέος (FNA)

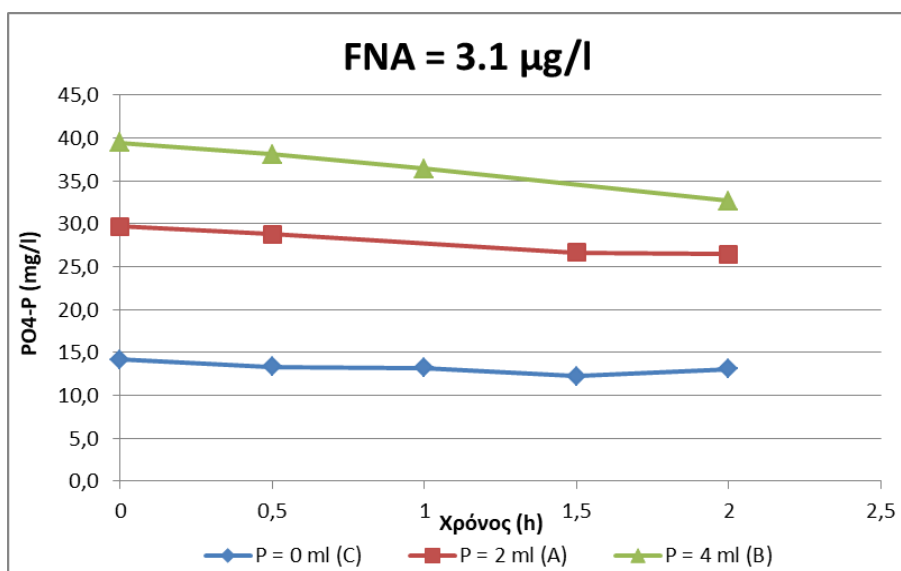
Πραγματοποιήθηκαν πειράματα για συγκέντρωση νιτρωδών ίση με 10, 40 και 120 mg NO₂-N/L, οι οποίες, για pH = 8 και θερμοκρασία T = 19.5°C, αντιστοιχούν σε όρους ελεύθερου νιτρώδους οξέος σε 0, 1 και 3.1 μg HNO₂-N/L. Σε κάθε πείραμα μελετήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης του φωσφόρου όταν δεν γινόταν προσθήκη φωσφόρου, όταν προστίθεται μικρή ποσότητα φωσφόρου (2 ml) και όταν προστίθεται μεγάλη ποσότητα φωσφόρου (4 ml). Οι μεταβολές της συγκέντρωσης του φωσφόρου για τα 3 πειράματα παρουσιάζονται ακολούθως (Σχήμα 4.20 - Σχήμα 4.22), ενώ οι αναλυτικές μετρήσεις τους παρουσιάζονται στο Παράρτημα.



Σχήμα 4.20: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P για FNA = 0 μg/l



Σχήμα 4.21: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P για FNA = 1 µg/l



Σχήμα 4.22: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P για FNA = 3.1 µg/l

Από τις πιο πάνω μεταβολές, προκύπτουν οι ανοξικοί ρυθμοί πρόσληψης φωσφόρου για τα 3 πειράματα (Πίνακας 4.15).

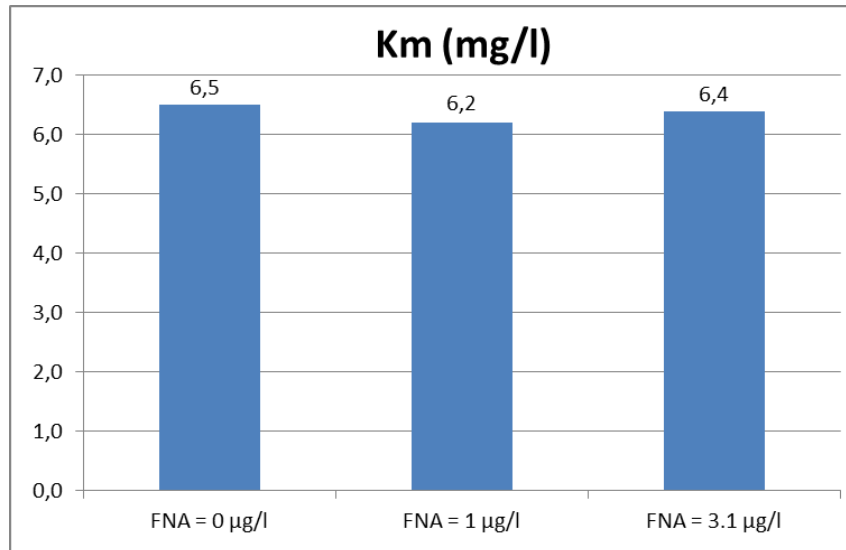
Πίνακας 4.15: Ανοξικά PUR των 3 πειραμάτων FNA

PURanox (mg PO ₄ -P/gVSS/h)			
	FNA = 0 μg/L	FNA = 1 μg/L	FNA = 3.1 μg/L
P = 0 ml (C)	6.57	6.09	1.25
P = 2 ml (A)	7.43	7.79	1.70
P = 4 ml (B)	12.39	8.18	3.08

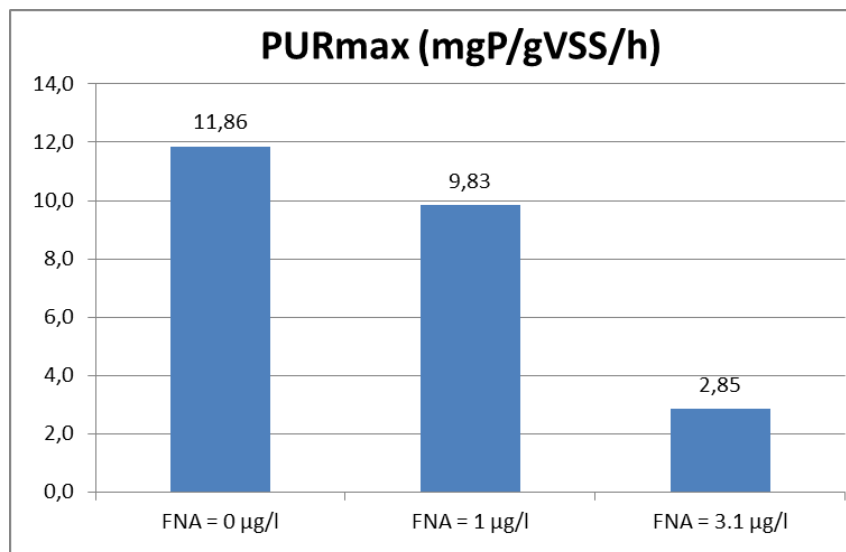
Εφαρμόζοντας την μέθοδο που περιγράφεται στην ενότητα 4.4.1, όπως περιγράφηκε και στο ενδεικτικό πείραμα πιο πάνω, οι τιμές των K_m^{app} και PUR_{max}^{app} για κάθε συγκέντρωση FNA προκύπτουν αλγεβρικά, ώστε να ελαχιστοποιηθεί το άθροισμα των τετραγώνων των διαφορών (SSE), βάση των αντίστοιχων εξισώσεων που σχηματίζονται για κάθε FNA. Επιπλέον, υπολογίζεται ο συντελεστής διακύμανσης για τα K_m^{app} ως ο λόγος της τυπικής απόκλισης των τριών K_m^{app} προς τη μέση τιμή τους. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στον επόμενο πίνακα (Πίνακας 4.16), ενώ ακολουθεί η γραφική απεικόνισή τους (Σχήμα 4.23 και Σχήμα 4.24).

Πίνακας 4.16: Αποτελέσματα του αναχαιτιστικού μοντέλου του ελεύθερου νιτρώδης οξέος

	FNA = 0 μg/L	FNA = 1 μg/L	FNA = 3.1 μg/L
K_m^{app} (mg/L)	6.5	6.2	6.4
PUR_{max}^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)	11.86	9.83	2.85
std PUR_{max}^{app}	2.73	0.08	0.95
SSE	14.96	0.01	2.14



Σχήμα 4.23: Τιμές σταθεράς K_m^{app} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FNA



Σχήμα 4.24: Τιμή PUR_{max}^{app} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FNA

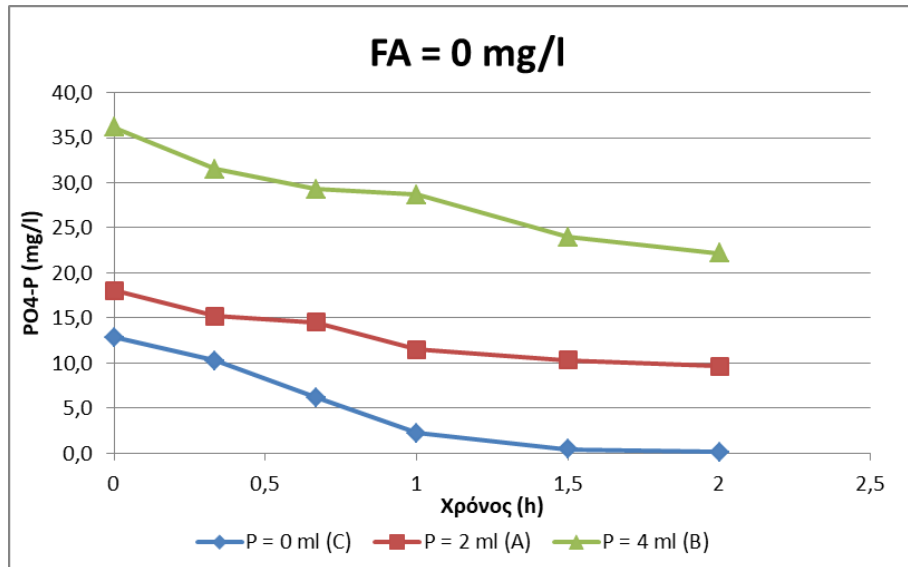
Οι τιμές των K_m^{app} και PUR_{max}^{app} υπολογίστηκαν για όλες τις πειραματικές δοκιμές. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το PUR_{max}^{app} μειώθηκε από 11.86 mg PO_4 -P/gVSS/h στο πείραμα μηδενικού FNA σε 9.83 mg PO_4 -P/gVSS/h και 2.85 mg PO_4 -P/gVSS/h για τα πειράματα με συγκέντρωση FNA 1 µg/L και 3.1 µg/L, αντίστοιχα. Επιπλέον, η τιμή K_m^{app} για όλα τα

πειράματα ήταν σχεδόν σταθερή, παρουσιάζοντας μια μέση τιμή ίση με 6.36 mg/L και έναν χαμηλό συντελεστή διακύμανσης, ίσο με 2%. Η μείωση του PUR_{max}^{app} και η σταθερότητα της τιμής K_m^{app} με την αύξηση της συγκέντρωσης FNA δείχνει σαφώς έναν non-competitive τρόπο αναστολής.

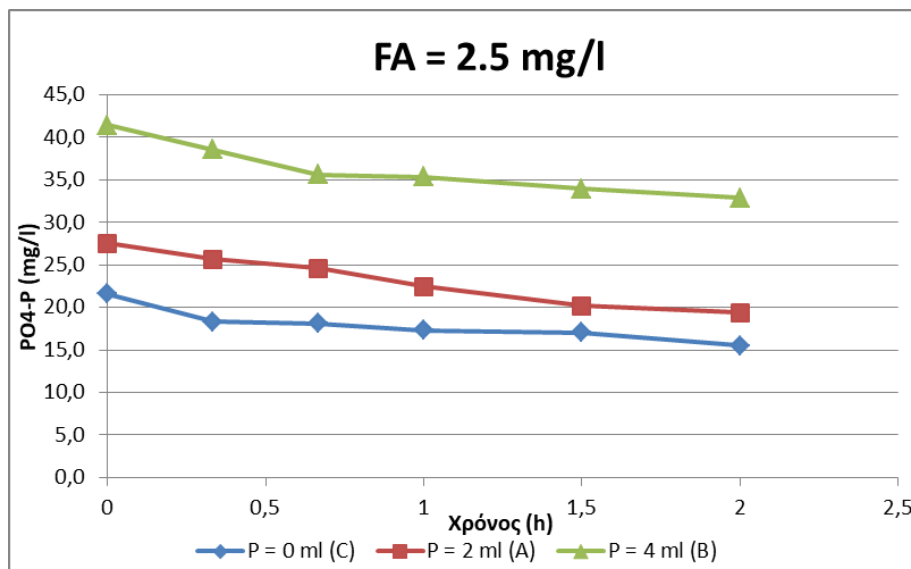
Ένας πιθανός μηχανισμός αναστολής του FNA στη δράση των DPAOs μπορεί να περιγραφεί από την ικανότητα του FNA να δεσμεύεται εξίσου καλά με το ένζυμο rrk και το σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος. Σε μια non-competitive αναστολή θεωρείται ότι και οι δύο συνδέσεις συμβαίνουν σε μια θέση διαφορετική από την ενεργή θέση δέσμευσης που καταλαμβάνεται από την τροφή. Σημειώνεται ότι έχει βρεθεί πως ο μηχανισμός αναστολής του FNA είναι non-competitive και για άλλους μικροοργανισμούς, όπως τα AOBs, τα NOBs και τα Anammox βακτήρια, όπως επίσης και στην αερόβια δράση των PAOs (Andreadakis et al., 2021; Puyol et al., 2014; Park et al., 2009).

4.4.3.2 Αναχαίτιση λόγω ελεύθερης αμμωνίας (FA)

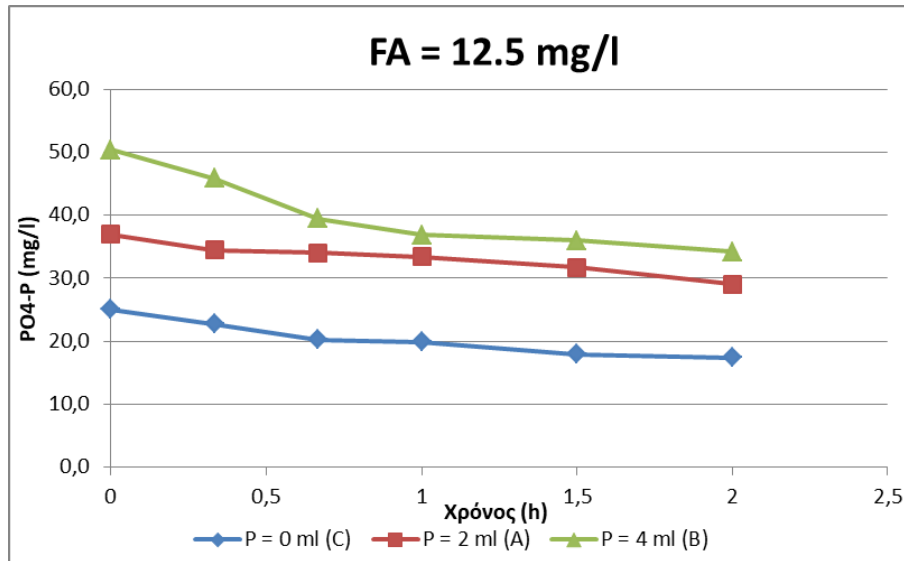
Τα πειράματα για τη διερεύνηση του μηχανισμού αναχαίτισης της ελεύθερης αμμωνίας αφορούσαν συγκέντρωση αμμωνίας ίση με 0, 67 και 340 mg NH_4-N/L , οι οποίες, για $pH = 8$ και θερμοκρασία $T = 19.5^{\circ}C$, αντιστοιχούν σε όρους ελεύθερης αμμωνίας σε 0, 2.5 και 12.5 mg NH_3-N/L . Σε κάθε πείραμα μελετήθηκε η μεταβολή της συγκέντρωσης του φωσφόρου όταν δεν γινόταν προσθήκη φωσφόρου, όταν προστίθεται μικρή ποσότητα φωσφόρου (2 ml) και όταν προστίθεται μεγάλη ποσότητα φωσφόρου (4 ml). Οι μεταβολές της συγκέντρωσης του φωσφόρου για τα 3 πειράματα παρουσιάζονται ακολούθως, ενώ οι αναλυτικές μετρήσεις τους παρουσιάζονται στο Παράρτημα.



Σχήμα 4.25: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P για FA = 0 mg/l



Σχήμα 4.26: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P για FA = 0 mg/l



Σχήμα 4.27: Μεταβολή συγκέντρωσης PO₄-P για FA = 0 mg/l

Από τις πιο πάνω μεταβολές, προκύπτουν οι ανοξικοί ρυθμοί πρόσληψης φωσφόρου για τα 3 πειράματα (Πίνακας 4.17: Ανοξικά PUR των 3 πειραμάτων).

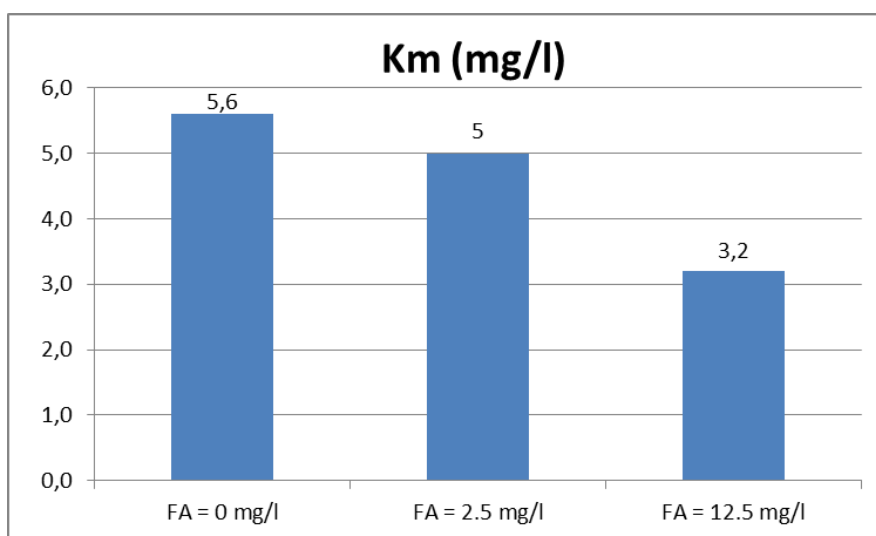
Πίνακας 4.17: Ανοξικά PUR των 3 πειραμάτων FA

PUR _{nox} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)			
	FA = 0 mg/L	FA = 2.5 mg/L	FA = 12.5 mg/L
P = 0 ml (C)	7.02	4.87	2.43
P = 2 ml (A)	8.13	5.18	5.01
P = 4 ml (B)	9.25	5.37	4.81

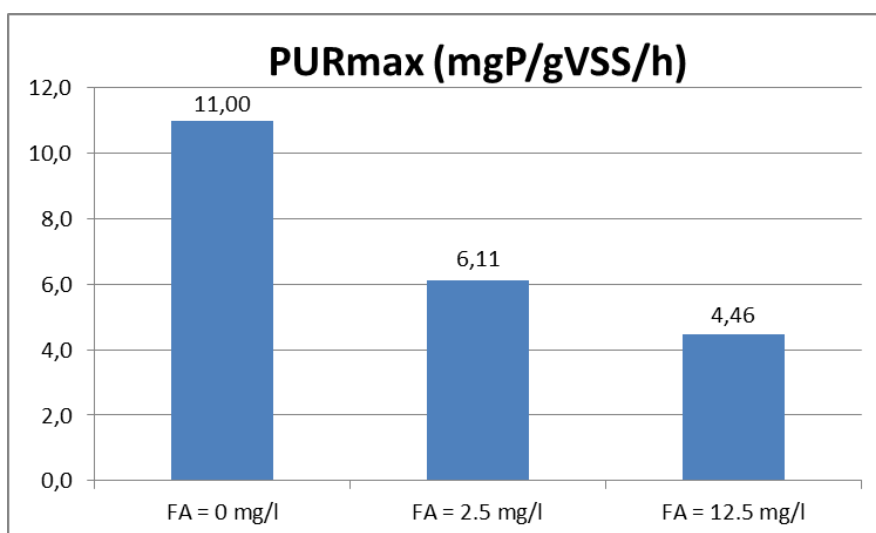
Όπως και στην περίπτωση του FNA, υπολογίστηκαν αλγεβρικά οι τιμές των K_m^{app} και PUR_{max}^{app} για όλες τις πειραματικές δοκιμές με γνώμονα την ελαχιστοποίηση του αθροίσματος των τετραγώνων των διαφορών. Ακολουθεί η παρουσίαση των αποτελεσμάτων (Πίνακας 4.18) και η γραφική απεικόνισή τους (Σχήμα 4.28 και Σχήμα 4.29).

Πίνακας 4.18: Αποτελέσματα του αναχαιτιστικού μοντέλου της ελεύθερης αμμωνίας

	FA = 0 mg/L	FA = 2.5 mg/L	FA = 12.5 mg/L
K_m^{app} (mg/L)	5.6	5.0	3.2
PUR_{max}^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)	11.00	6.11	4.46
std PUR_{max}^{app}	0.17	0.06	1.45
SSE	0.05	0.01	4.22



Σχήμα 4.28: Τιμές σταθεράς K_m^{app} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FA



Σχήμα 4.29: Τιμές σταθεράς K_m^{app} για τις διαφορετικές συγκεντρώσεις FA

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η τιμή K_m^{app} παρουσίασε μείωση, σημειώνοντας 5.6 mg/L στο πείραμα μηδενικού FA, 5.0 mg/L στο πείραμα με FA = 2.5 mg/L και 3.2 mg/L στο πείραμα με FA = 12.5 mg/L. Όσον αφορά το PUR_{max}^{app} , μειώθηκε από 11.00 mg PO₄-P/gVSS/h στο πείραμα μηδενικού FA σε 6.11 mg PO₄-P/gVSS/h στο πείραμα με FA = 2.5 mg/L και στα 4.46 mg PO₄-P/gVSS/h στο πείραμα με FA = 12.5 mg/L. Η μείωση τόσο του PUR_{max}^{app} , όσο και του K_m^{app} με την αύξηση της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας, υποδηλώνει ένα uncompetitive μηχανισμό αναχαίτισης.

Στην περίπτωση του uncompetitive τύπου αναστολής, ο ανασταλτικός παράγοντας, δηλαδή η ελεύθερη αμμωνία, δεν δεσμεύει το ένζυμο rpk, αλλά μόνο το σύμπλοκο ενζύμου-υποστρώματος. Επιπλέον, η FA δρα με uncompetitive μηχανισμό αναχαίτισης στα AOBs, τα NOBs και στην αερόβια δράση των PAOs (Andreadakis et al., 2021; Park et al., 2009).

Στη συνέχεια, γίνεται η μαθηματική αποτύπωση του μοντέλου αναχαίτισης με στόχο να βρεθεί η εξίσωση που το περιγράφει καλύτερα. Χρησιμοποιούνται τα αποτελέσματα των batch πειραμάτων που έγιναν για τη διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στα DPAOs, τα αποτελέσματα των οποίων παρουσιάστηκαν στην προηγούμενη ενότητα (βλ. 4.3.2). Η κλασική εξίσωση που περιγράφει έναν uncompetitive τρόπο αναχαίτισης είναι η ακόλουθη:

$$PUR = PUR_{max} \frac{S}{S * \left(1 + \frac{S_{FA}}{K_{iFA}}\right) + K_S}$$

Όπου PUR: ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου όπως προέκυψε από το εκάστοτε πείραμα

S_{FA} : συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας που μελετήθηκε στο εκάστοτε πείραμα

S: συγκέντρωση φωσφόρου στα πειράματα

PUR_{max} : μέγιστος φαινομενικά ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου

K_{iFA} : σταθερά αναστολής

K_S : σταθερά ημικορεσμού

Για την εφαρμογή της πιο πάνω σχέσης, θεωρούμε ότι η σταθερά ημικορεσμού είναι περίπου ίση με τη μέση τιμή των K_m που προέκυψαν πιο πάνω, δηλαδή $K_s = 5 \text{ mg/}$ και η συγκέντρωση φωσφόρου S είναι ίση με 40 mg/l . Οι συγκεντρώσεις S_{FA} αποτελούν τις συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας που μελετήθηκαν στα πειράματα, για τις οποίες υπολογίζεται από την πιο πάνω εξίσωση ο βαθμός αναχαίτισης του PUR ως εξής:

$$\text{Αναχαίτιση}_{\text{μοντ}}(\%) = \frac{\text{PUR}_{\text{max}} - \text{PUR}}{\text{PUR}_{\text{max}}} * 100$$

Συγκρίνοντας τον πραγματικό βαθμό αναχαίτισης που προέκυψε στα πειράματα με τον βαθμό αναχαίτισης που υπολογίζεται από το μοντέλο και με στόχο την ελαχιστοποίηση του αθροίσματος των τετραγώνων των διαφορών των δύο (SSE), προκύπτει η σταθερά αναστολής $K_{iFA} = 9.8 \text{ mg/L} \approx 10 \text{ mg/L}$. Αξίζει να σημειωθεί ότι η σταθερά αναστολής K_{iFA} σε αντίστοιχη έρευνα για την αναχαίτιση της αερόβιας πρόσληψης φωσφόρου που έγινε από τους Andreadakis et al. (2021) ήταν ίση με 10 mg/L , δηλαδή η K_{iFA} του μοντέλου αναστολής στα PAOs και στα DPAOs πρακτικά είναι ίδια.

Η ικανότητα του προαναφερθέντος μοντέλου αναστολής δοκιμάστηκε έναντι του μοντέλου που πρότειναν οι Levenspiel et al. (1980), το οποίο περιγράφεται με την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{PUR} = \text{PUR}_{\text{max}} \left(1 - \frac{S_{FA}}{S_{FA}^*}\right)^n$$

Όπου PUR: ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου όπως προέκυψε από το πείραμα

PUR_{max} : μέγιστος φαινομενικά ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου

S_{FA} : συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας που μελετήθηκε στο πείραμα

S_{FA}^* : συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας όπου επιτυγχάνεται πλήρης αναχαίτιση

n: μεταβλητή αναστολής

Ο βαθμός αναχαίτισης που προκύπτει από το πιο πάνω μοντέλο υπολογίστηκε όπως και πριν. Όσον αφορά τη συγκέντρωση ελεύθερης αμμωνίας όπου επιτυγχάνεται πλήρης αναχαίτιση S_{FA}^* , υπολογίστηκε βάση της λογαριθμικής εξίσωσης που περιγράφει την

ανοξική αναχαίτιση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων λόγω της ελεύθερης αμμωνίας (Σχήμα 4.13) και είναι ίση με 34 mg/L.

Η μεταβλητή αναστολής n υπολογίζεται αντίστοιχα ώστε να ελαχιστοποιηθεί το άθροισμα των τετραγώνων των διαφορών μεταξύ του πειραματικού βαθμού αναχαίτισης και αυτού που υπολογίζεται από το μοντέλο των Levenspiel et al. (1980). Η ελαχιστοποίηση αυτή επιτεύχθηκε για $n = 2$.

Επιπλέον, για την καλύτερη σύγκριση των μοντέλων χρησιμοποιήθηκαν κάποιοι στατιστικοί δείκτες, οι οποίοι προτάθηκαν από τους Moriasi et al. (2007). Συγκεκριμένα, υπολογίστηκε για κάθε μοντέλο ο δείκτης NSE (Nash-Sutcliffe efficiency coefficient), ο οποίος αποτελεί έναν κανονικοποιημένο στατιστικό δείκτη που συγκρίνει τη διακύμανση των μοντελοποιημένων αποτελεσμάτων σε σχέση με τη διακύμανση των πειραματικών δεδομένων, και ο δείκτης PBIAS (percent bias), ο οποίος εκφράζει τη τάση των προσομοιωμένων δεδομένων να είναι μεγαλύτερα ή μικρότερα από τα αντίστοιχα παρατηρούμενα. Η αξιολόγηση των μοντέλων έγινε βάση των εξής κριτηρίων: $NSE > 0.8$ και $PBIAS \pm 20\%$. Ο υπολογισμός των δύο δεικτών γίνεται με τις ακόλουθες σχέσεις (Moriasi et al., 2007):

$$NSE = 1 - \left[\frac{\sum_{i=1}^n (y_{i_{obs}} - y_{i_{sim}})^2}{\sum_{i=1}^n (y_{i_{obs}} - y_{i_{mean}})^2} \right]$$

$$PBIAS (\%) = 1 - \left[\frac{\sum_{i=1}^n (y_{i_{obs}} - y_{i_{sim}}) * 100}{\sum_{i=1}^n y_{i_{obs}}} \right]$$

Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζονται οι στατιστικοί δείκτες των δύο μοντέλων που περιγράφηκαν.

Πίνακας 4.19: Στατιστικοί δείκτες μοντέλων αναχαίτισης

	Uncompetitive	Levenspiel et al. (1980)
SSE	1782	1795
NSE	0.55	0.55
PBIAS	0.91%	-2.52%

Ο δείκτης NSE και το άθροισμα ελαχίστων διαφορών SSE πρακτικά ταυτίζονται στα δύο μοντέλα, ενώ ο δείκτης PBIAS προκύπτει ικανοποιητικός και για τα δύο μοντέλα. Η σύγκριση των δύο μοντέλων υποδηλώνει ότι τόσο το συμβατικό uncompetitive μοντέλο, όσο και το μοντέλο της Levenspiel et al. (1980) είναι σε θέση να περιγράψουν με τον ίδιο ικανοποιητικό τρόπο το φαινόμενο της αναχαίτισης της ελεύθερης αμμωνίας στα DPAOs.

5 Συμπεράσματα

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων. Στα πλαίσια αυτά, αναπτύχθηκε ένα πιλοτικό σύστημα αντιδραστήρα SBR στο Εργαστήριο Υγειονομικής Τεχνολογίας του Ε.Μ.Π., το οποίο λειτούργησε από τις 16 Σεπτεμβρίου 2020 μέχρι τις 25 Απριλίου 2021. Σκοπός ήταν η καλλιέργεια και η συντήρηση πολυφωσφορικών βακτηριδίων (PAOs), ενώ η βιομάζα που χρησιμοποιήθηκε κατά την εκκίνηση του αντιδραστήρα προήρθε από την ΕΕΛ της Ψυττάλειας.

Η ημερήσια λειτουργία του συστήματος αποτελείτο από τέσσερις κύκλους, όπου εναλλάσσονταν αναερόβιες – αερόβιες και ανοξικές φάσεις. Η τροφοδοσία του συστήματος γινόταν με στραγγίδια αφυδάτωσης από τη γραμμή λύος της ΕΕΛ στη Ψυττάλεια. Η φόρτιση του συστήματος ξεκίνησε από τα $0.061 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ και έφτασε μέχρι τα $0.155 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$. Ως πηγή άνθρακα χρησιμοποιήθηκε προπιονικό οξύ, ενώ εξασφαλιζόταν ότι το φορτίο του αζώτου απομακρυνόταν με τη βιολογική οδό της νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης. Η επιλογή έγινε με γνώμονα την κυριαρχία των πολυφωσφορικών βακτηριδίων έναντι των κοινών ανταγωνιστών τους, των GAOs, καθώς δεν είναι σε θέση να χρησιμοποιήσουν το προπιονικό οξύ ως πηγή άνθρακα και τα νιτρώδη ως αποδέκτη ηλεκτρονίων ταυτόχρονα. Επιπλέον, ακολουθήθηκε συγκεκριμένη στρατηγική για να δοθεί προτεραιότητα για απονιτρωδοποίηση στα DPAOs έναντι των κοινών ετεροτροφικών απονιτρωδοποιητών.

Με την σταθεροποίηση της απόδοσης του συστήματος ως προς την απομάκρυνση φωσφόρου και αζώτου και την επιτυχημένη ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων, υλοποιήθηκαν batch πειράματα για τη διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στα πολυφωσφορικά βακτηρίδια σε ανοξικές συνθήκες (DPAOs) και για το μηχανισμό αναχαίτισης της ελεύθερης αμμωνίας και του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στην ανάπτυξη των πολυφωσφορικών βακτηριδίων.

Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν batch πειράματα για $\text{pH} = 8$ και συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου $\text{NH}_4\text{-N} = 70 - 240 \text{ mg/L}$ (αντίστοιχες συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας $\text{NH}_3\text{-N} = 7.4 - 25.8$) και για $\text{pH} = 8.5$ και συγκεντρώσεις αμμωνιακού αζώτου $\text{NH}_4\text{-N} = 140 - 260 \text{ mg/L}$ (αντίστοιχες συγκεντρώσεις ελεύθερης αμμωνίας $\text{NH}_3\text{-N} = 5.1 - 9.6$). Σε αυτά τα πειράματα προσδιοριζόταν ο ανοξικός ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου από τα πολυφωσφορικά βακτήρια (PUR) παρουσία ή μη αμμωνιακού αζώτου, βάση του οποίου προέκυπτε ο βαθμός αναχαίτισης της απομάκρυνσης φωσφόρου. Στη συνέχεια, εκτελέστηκαν πειράματα για τον προσδιορισμό του μηχανισμού αναχαίτισης λόγω της ελεύθερης αμμωνίας και αντίστοιχα πειράματα για τον προσδιορισμό του μηχανισμού αναχαίτισης λόγω του ελεύθερου νιτρώδους οξέος.

Με βάση τα αποτελέσματα τα οποία αναλύθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο, προκύπτουν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Η επίτευξη βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου με ταυτόχρονη εφαρμογή νιτρωδοποίησης – απονιτρωδοποίησης για την βιολογική απομάκρυνση αζώτου είναι εφικτή, καθώς τα πολυφωσφορικά βακτηρίδια είναι σε θέση να απομακρύνουν φώσφορο με ικανοποιητική ταχύτητα σε ανοξικές συνθήκες και να αναπτύξουν καλή απονιτρωδοποιητική ικανότητα. Αυτό συνεπάγεται ότι είναι δυνατή η εφαρμογή ενός τέτοιου συστήματος για την ξεχωριστή επεξεργασία στραγγιδίων αφυδάτωσης, τα οποία περιέχουν υψηλά φορτία αζώτου και φωσφόρου.
- Αύξηση της φόρτισης αζώτου του συστήματος από τα $0.1 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ στα $0.155 \text{ g NH}_4\text{-N/m}^3/\text{d}$ οδηγεί σε αντίστοιχη μείωση του ανοξικού ρυθμού πρόσληψης φωσφόρου κατά περίπου 50%, δηλαδή από $7.8 \text{ mgPO}_4\text{-P/gVSS/h}$ στα $3.8 \text{ mgPO}_4\text{-P/gVSS/h}$.
- Ο ρυθμός πρόσληψης φωσφόρου σε ανοξικές συνθήκες ισούται με το 35 – 40% του αντίστοιχου ρυθμού σε αερόβιες συνθήκες, γεγονός που υποδηλώνει τις αντίστοιχες ταχύτητες μεταβολισμού των DPAOs και των PAOs.
- Τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν για την διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων

επιβεβαιώνουν ότι ο αναχαιτιστικός παράγοντας στην ανοξική πρόσληψη φωσφόρου είναι όντως η ελεύθερη αμμωνία. Η συσχέτιση μεταξύ του βαθμού αναχαίτισης και της συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας περιγράφεται με λογαριθμική καμπύλη. Το ίδιο συμβαίνει και με τη συσχέτιση μεταξύ του βαθμού αναχαίτισης και της συγκέντρωσης του αμμωνιακού αζώτου. Σε σταθερή συγκέντρωση αμμωνιακού αζώτου, αυξανόμενου του pH, σημειώνεται μεγαλύτερη αναχαίτιση, λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης της ελεύθερης αμμωνίας.

- Η συμπεριφορά της ανοξικής δέσμευσης φωσφόρου παρουσίας ελεύθερης αμμωνίας συγκρίθηκε με την αερόβια δέσμευση φωσφόρου από προηγούμενες εργασίες. Οι δύο ρυθμοί πρόσληψης παρουσιάζουν αντίστοιχη ευαισθησία και συμπεριφορά παρουσία της ελεύθερης αμμωνίας.
- Η ελεύθερη αμμωνία δεν φάνηκε να επηρεάζει τον ρυθμό κατανάλωσης COD και την έκλυση φωσφόρου σε αναερόβιες συνθήκες, υποδεικνύοντας πως η υδρόλυση των πολυφωσφορικών αλυσίδων και η πρόσληψη οργανικής τροφής με στόχο την αποθήκευσή της ως PHAs δεν αναχαιτίζονται από την παρουσία της.
- Οι διεργασίες αναχαίτισης της δράσης των DPAOs λόγω παρουσίας ελεύθερου νιτρώδους οξέος ακολουθούν ένα non – competitive μοντέλο.
- Η μαθητική περιγραφή του μοντέλου της αναχαίτισης της ελεύθερης αμμωνίας στην ανοξική δράση των πολυφωσφορικών βακτηρίων περιγράφεται από ένα uncompetitive μοντέλο, όπως και στις αερόβιες συνθήκες. Η σταθερά αναχαίτισης του μοντέλου ισούται με 10 mg/L και στις δύο περιπτώσεις. Από τα μοντέλα τα οποία δοκιμάστηκαν φαίνεται ότι τόσο το συμβατικό μοντέλο uncompetitive, όσο και το μοντέλο της Levenspiel (1980) δίνουν εξίσου ικανοποιητικά αποτελέσματα για την περιγραφή του φαινομένου της αναχαίτισης.

Βιβλιογραφία

- Abd Roni, N. B., Adnan, S. H., Hamidon, N., & Ismail, T. N. H. T. (2020). An Overview of the Removal Phosphorus in Wastewater. *Journal of Advanced Industrial Technology and Application*, 1(2), 1-6.
- Abeling, U., & Seyfried, C. F. (1992). Anaerobic-aerobic treatment of high-strength ammonium wastewater-nitrogen removal via nitrite. *Water science and technology*, 26(5-6), 1007-1015.
- Acevedo, B., Camiña, C., Corona, J. E., Borrás, L., & Barat, R. (2015). The metabolic versatility of PAOs as an opportunity to obtain a highly P-enriched stream for further P-recovery. *Chemical Engineering Journal*, 270, 459-467.
- Acevedo, B., Murgui, M., Borrás, L., & Barat, R. (2017). New insights in the metabolic behaviour of PAO under negligible poly-P reserves. *Chemical Engineering Journal*, 311, 82-90.
- Acevedo, B., Oehmen, A., Carvalho, G., Seco, A., Borrás, L., & Barat, R. (2012). Metabolic shift of polyphosphate-accumulating organisms with different levels of polyphosphate storage. *Water research*, 46(6), 1889-1900.
- Ahn, J., Daidou, T., Tsuneda, S., & Hirata, A. (2001). Metabolic behavior of denitrifying phosphate-accumulating organisms under nitrate and nitrite electron acceptor conditions. *Journal of bioscience and bioengineering*, 92(5), 442-446.
- Ahn, Y. H. (2006a). Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: a review. *Process Biochemistry*, 41(8), 1709-1721.
- Ahn, Y. H., & Speece, R. E. (2006b). Elutriated acid fermentation of municipal primary sludge. *Water research*, 40(11), 2210-2220.
- Almeida, J. S., Julio, S. M., Reis, M. A. M., & Carrondo, M. J. T. (1995). Nitrite inhibition of denitrification by *Pseudomonas fluorescens*. *Biotechnology and bioengineering*, 46(3), 194-201.
- Altundoğan, H. S., & Tümen, F. (2002). Removal of phosphates from aqueous solutions by using bauxite. I: Effect of pH on the adsorption of various phosphates. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 77(1), 77-85.
- Andreadakis, D., Noutsopoulos, C., Fragkiskatos, G., Mamais, D., Misirli, T., Argyropoulou, K., Themeli, E. & Malamis, S (2021). The role of free nitrous acid and free ammonia in the inhibition of the aerobic phosphorus uptake rate: Evidence for insufficient phosphorus removal through nitrification-denitrification (not published yet).
- Andrés, E., Araya, F., Vera, I., Pozo, G., & Vidal, G. (2018). Phosphate removal using zeolite in treatment wetlands under different oxidation-reduction potentials. *Ecological Engineering*, 117, 18-27.
- Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B. S., & Srinath, E. G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 835-852.

- Aponte-Morales, V. E., Payne, K. A., Cunningham, J. A., & Ergas, S. J. (2018). Bioregeneration of chabazite during nitrification of centrate from anaerobically digested livestock waste: experimental and modeling studies. *Environmental science & technology*, *52*(7), 4090-4098.
- Arias, M., Da Silva-Carballal, J., Garcia-Rio, L., Mejuto, J., & Nunez, A. (2006). Retention of phosphorus by iron and aluminum-oxides-coated quartz particles. *Journal of colloid and interface Science*, *295*(1), 65-70.
- Artan, N., Wilderer, P., Orhon, D., Morgenroth, E., & Özgür, N. (2001). The mechanism and design of sequencing batch reactor systems for nutrient removal-the state of the art. *Water Science and Technology*, *43*(3), 53-60.
- Barnard, J. L. (1976). A review of biological phosphorus removal in the activated sludge process. *Water sa*, *2*(3), 136-144.
- Barnard, J. L. (1998). Secondary Phosphorus Release in Biological Phosphorus Removal Systems. In Proc. *Water Environ. Fed. 71st Annu. Conf. Exposition*. (Vol. 1, p. 475).
- Barnard, J. L., & Abraham, K. (2006). Key features of successful BNR operation. *Water science and technology*, *53*(12), 1-9.
- Bassin, J. P., Winkler, M. K., Kleerebezem, R., Dezotti, M., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2012). Improved phosphate removal by selective sludge discharge in aerobic granular sludge reactors. *Biotechnology and bioengineering*, *109*(8), 1919-1928.
- Beer, M., Stratton, H. M., Griffiths, P. C., & Seviour, R. J. (2006). Which are the polyphosphate accumulating organisms in full-scale activated sludge enhanced biological phosphate removal systems in Australia?. *Journal of applied microbiology*, *100*(2), 233-243.
- Begum, S. A., & Batista, J. R. (2014). Impact of butyrate on microbial selection in enhanced biological phosphorus removal systems. *Environmental technology*, *35*(23), 2961-2972.
- Belmonte, M., Hsieh, C. F., Figueroa, C., Campos, J. L., & Vidal, G. (2011). Effect of free ammonia nitrogen on the methanogenic activity of swine wastewater. *Electronic Journal of Biotechnology*, *14*(3), 2-2.
- Blackall, L. L., Crocetti, G. R., Saunders, A. M., & Bond, P. L. (2002). A review and update of the microbiology of enhanced biological phosphorus removal in wastewater treatment plants. *Antonie Van Leeuwenhoek*, *81*(1), 681-691.
- Blackburne, R., Vadivelu, V. M., Yuan, Z., & Keller, J. (2007). Kinetic characterisation of an enriched Nitrospira culture with comparison to Nitrobacter. *Water research*, *41*(14), 3033-3042.
- Brdjanovic, D., Logemann, S., van Loosdrecht, M. C., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., & Heijnen, J. J. (1998). Influence of temperature on biological phosphorus removal: process and molecular ecological studies. *Water Research*, *32*(4), 1035-1048.
- Brdjanovic, D., Slamet, A., Van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Alaerts, G. J., & Heijnen, J. J. (1998). Impact of excessive aeration on biological phosphorus removal from wastewater. *Water Research*, *32*(1), 200-208.

- Brdjanovic, D., Van Loosdrecht, M. C. M., Hooijmans, C. M., Mino, T., Alaerts, G. J., & Heijnen, J. J. (1998). Effect of polyphosphate limitation on the anaerobic metabolism of phosphorus-accumulating microorganisms. *Applied microbiology and biotechnology*, 50(2), 273-276.
- Brul, S., & Coote, P. (1999). Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanisms. *International journal of food microbiology*, 50(1-2), 1-17.
- Bunce, J. T., Ndam, E., Ofiteru, I. D., Moore, A., & Graham, D. W. (2018). A review of phosphorus removal technologies and their applicability to small-scale domestic wastewater treatment systems. *Frontiers in Environmental Science*, 6, 8.
- Cai, W., Huang, W., Lei, Z., Zhang, Z., Lee, D. J., & Adachi, Y. (2019). Granulation of activated sludge using butyrate and valerate as additional carbon source and granular phosphorus removal capacity during wastewater treatment. *Bioresource technology*, 282, 269-274.
- Camejo, P.Y., Owen, B.R., Martirano, J., Ma, J., Kapoor, V., Santo Domingo, J., McMahon, K.D. and Noguera, D.R. (2016). Candidatus Accumulibacter phosphatis clades enriched under cyclic anaerobic and microaerobic conditions simultaneously use different electron acceptors. *Water research*, 102, pp.125-137.
- Cao, J., Yu, Y., Xie, K., Luo, J., Feng, Q., Fang, F., Li, C. & Xue, Z. (2017). Characterizing the free ammonia exposure to the nutrients removal in activated sludge systems. *RSC advances*, 7(87), pp.55088-55097.
- Carrera, J., Sarra, M., Lafuente, F. J., & Vicent, T. (2001). Effect of different operational parameters in the enhanced biological phosphorus removal process. Experimental design and results. *Environmental technology*, 22(12), 1439-1446.
- Carrillo, V., Fuentes, B., Gómez, G., & Vidal, G. (2020). Characterization and recovery of phosphorus from wastewater by combined technologies. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19, 389-418.
- Carvalho, M., Oehmen, A., Carvalho, G., & Reis, M. A. (2014a). Survival strategies of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms under conditions of low organic loading. *Bioresource technology*, 172, 290-296.
- Carvalho, M., Oehmen, A., Carvalho, G., & Reis, M. A. (2014b). The effect of substrate competition on the metabolism of polyphosphate accumulating organisms (PAOs). *Water research*, 64, 149-159.
- Carvalho, M., Oehmen, A., Carvalho, G., Eusébio, M., & Reis, M. A. (2014c). The impact of aeration on the competition between polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water research*, 66, 296-307.
- Carvalho, G., Lemos, P. C., Oehmen, A., & Reis, M. A. (2007). Denitrifying phosphorus removal: linking the process performance with the microbial community structure. *Water research*, 41(19), 4383-4396.
- Cervantes, F. J. (Ed.). (2009). Environmental technologies to treat nitrogen pollution. *IWA publishing*.

- Chen, H., Wang, D., Li, X., Yang, Q., Luo, K., Zeng, G., Tang, M., Xiong, W. & Yang, G. (2014). Effect of dissolved oxygen on biological phosphorus removal induced by aerobic/extended-idle regime. *Biochemical engineering journal*, 90, pp.27-35.
- Chen, J., Xu, J., Zhang, S., Liu, F., Peng, J., Peng, Y., & Wu, J. (2021). Nitrogen removal characteristics of a novel heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacteria, *Alcaligenes faecalis* strain WT14. *Journal of Environmental Management*, 282, 111961.
- Chen, Y., Liu, Y., Zhou, Q., & Gu, G. (2005). Enhanced phosphorus biological removal from wastewater—effect of microorganism acclimatization with different ratios of short-chain fatty acids mixture. *Biochemical Engineering Journal*, 27(1), 24-32.
- Chen, Y., Randall, A. A., & McCue, T. (2004). The efficiency of enhanced biological phosphorus removal from real wastewater affected by different ratios of acetic to propionic acid. *Water Research*, 38(1), 27-36.
- Cho, E., & Molof, A. H. (2004). Effect of sequentially combining methanol and acetic acid on the performance of biological nitrogen and phosphorus removal. *Journal of environmental management*, 73(3), 183-187.
- Chung, J., Shim, H., Park, S. J., Kim, S. J., & Bae, W. (2006). Optimization of free ammonia concentration for nitrite accumulation in shortcut biological nitrogen removal process. *Bioprocess and biosystems engineering*, 28(4), 275-282.
- Ciudad, G., Werner, A., Bornhardt, C., Muñoz, C., & Antileo, C. (2006). Differential kinetics of ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria: A simple kinetic study based on oxygen affinity and proton release during nitrification. *Process Biochemistry*, 41(8), 1764-1772.
- Coats, E. R., Watkins, D. L., Brinkman, C. K., & Loge, F. J. (2011). Effect of anaerobic HRT on biological phosphorus removal and the enrichment of phosphorus accumulating organisms. *Water Environment Research*, 83(5), 461-469.
- Coma, M., Verawaty, M., Pijuan, M., Yuan, Z., & Bond, P. L. (2012). Enhancing aerobic granulation for biological nutrient removal from domestic wastewater. *Bioresource technology*, 103(1), 101-108.
- Comeau, Y., Hall, K. J., Hancock, R. E. W., & Oldham, W. K. (1986). Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. *Water Research*, 20(12), 1511-1521.
- Comeau, Y., Oldham, W. K., & Hall, K. J. (1987). Dynamics of carbon reserves in biological dephosphatation of wastewater. In *Biological phosphate removal from wastewaters* (pp. 39-55). Pergamon.
- Dai, X., Hu, C., Zhang, D., Dai, L., & Duan, N. (2017). Impact of a high ammonia-ammonium-pH system on methane-producing archaea and sulfate-reducing bacteria in mesophilic anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 245, 598-605.
- Dai, Y., Yuan, Z., Wang, X., Oehmen, A., & Keller, J. (2007). Anaerobic metabolism of *Defluviicoccus vanus* related glycogen accumulating organisms (GAOs) with acetate and propionate as carbon sources. *Water research*, 41(9), 1885-1896.

- Daims, H., Taylor, M. W., & Wagner, M. (2006). Wastewater treatment: a model system for microbial ecology. *Trends in biotechnology*, 24(11), 483-489.
- Decrey, L., Kazama, S., & Kohn, T. (2016). Ammonia as an in situ sanitizer: influence of virus genome type on inactivation. *Applied and environmental microbiology*, 82(16), 4909-4920.
- Dixit, S., & Patidar, S. K. (2019). A Review on Nitrification Process. In *Advances in Waste Management* (pp. 369-383). Springer, Singapore.
- Duan, H., Wang, Q., Erler, D. V., Ye, L., & Yuan, Z. (2018). Effects of free nitrous acid treatment conditions on the nitrite pathway performance in mainstream wastewater treatment. *Science of the total environment*, 644, 360-370.
- Egli, K., Fanger, U., Alvarez, P. J., Siegrist, H., van der Meer, J. R., & Zehnder, A. J. (2001). Enrichment and characterization of an anammox bacterium from a rotating biological contactor treating ammonium-rich leachate. *Archives of microbiology*, 175(3), 198-207.
- Eisenthal, R., & Cornish-Bowden, A. (1974). The direct linear plot. A new graphical procedure for estimating enzyme kinetic parameters. *Biochemical Journal*, 139(3), 715-720.
- Erdal, U. G., Erdal, Z. K., & Randall, C. W. (2003). The competition between PAOs (phosphorus accumulating organisms) and GAOs (glycogen accumulating organisms) in EBPR (enhanced biological phosphorus removal) systems at different temperatures and the effects on system performance. *Water Science and Technology*, 47(11), 1-8.
- Ersu, C. B., Ong, S. K., Arslankaya, E., & Lee, Y. W. (2010). Impact of solids residence time on biological nutrient removal performance of membrane bioreactor. *Water research*, 44(10), 3192-3202.
- Federation, W. E., & APH Association. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA*.
- Ferreira, T. B., Carrondo, M. J. T., & Alves, P. M. (2007). Effect of ammonia production on intracellular pH: Consequent effect on adenovirus vector production. *Journal of biotechnology*, 129(3), 433-438.
- Ferrentino, R., Langone, M., & Andreottola, G. (2017). Temperature effects on the activity of denitrifying phosphate accumulating microorganisms and sulphate reducing bacteria in anaerobic side-stream reactor. *J Environ Bio Res*, 1(1), 1.
- Filipe, C. D., Daigger, G. T., & Grady Jr, C. L. (2001a). A metabolic model for acetate uptake under anaerobic conditions by glycogen accumulating organisms: stoichiometry, kinetics, and the effect of pH. *Biotechnology and bioengineering*, 76(1), 17-31.
- Filipe, C. D., Daigger, G. T., & Grady Jr, C. L. (2001b). Effects of pH on the rates of aerobic metabolism of phosphate-accumulating and glycogen-accumulating organisms. *Water environment research*, 73(2), 213-222.
- Filipe, C. D., Daigger, G. T., & Grady Jr, C. L. (2001c). pH as a key factor in the competition between glycogen-accumulating organisms and phosphorus-accumulating organisms. *Water Environment Research*, 73(2), 223-232.

Filipe, C. D., Daigger, G. T., & Grady Jr, C. L. (2001d). Stoichiometry and kinetics of acetate uptake under anaerobic conditions by an enriched culture of phosphorus-accumulating organisms at different pHs. *Biotechnology and bioengineering*, 76(1), 32-43.

Flowers, J. J., He, S., Yilmaz, S., Noguera, D. R., & McMahon, K. D. (2009). Denitrification capabilities of two biological phosphorus removal sludges dominated by different 'Candidatus Accumulibacter' clades. *Environmental microbiology reports*, 1(6), 583-588.

Freitas, F., Temudo, M. F., Carvalho, G., Oehmen, A., & Reis, M. A. (2009). Robustness of sludge enriched with short SBR cycles for biological nutrient removal. *Bioresource technology*, 100(6), 1969-1976.

Fux, C., Lange, K., Faessler, A., Huber, P., Grueniger, B., & Siegrist, H. (2003). Nitrogen removal from digester supernatant via nitrite-SBR or SHARON?. *Water Science and Technology*, 48(8), 9-18.

Gao, D., Peng, Y., Li, B., & Liang, H. (2009). Shortcut nitrification–denitrification by real-time control strategies. *Bioresource technology*, 100(7), 2298-2300.

Ge, H., Batstone, D. J., & Keller, J. (2015). Biological phosphorus removal from abattoir wastewater at very short sludge ages mediated by novel PAO clade Comamonadaceae. *Water research*, 69, 173-182.

Gerber, A., De Villiers, R. H., Mostert, E. S., & Van Riet, C. J. J. (1987). The phenomenon of simultaneous phosphate uptake and release, and its importance in biological nutrient removal. In *Biological phosphate removal from wastewaters* (pp. 123-134). Pergamon.

Ghaly, A. E., & Ramakrishnan, V. V. (2015). Nitrogen sources and cycling in the ecosystem and its role in air, water and soil pollution: a critical review. *Journal of Pollution Effects & Control*, 1-26.

Gil, K. I., & Choi, E. S. (2001). Modelling of inhibition of nitrite oxidation in biological nitrification processes by free ammonia. *Biotechnology letters*, 23(24), 2021-2026.

Glass, C., Silverstein, J., & Oh, J. (1997). Inhibition of denitrification in activated sludge by nitrite. *Water environment research*, 69(6), 1086-1093.

Gu, S., Fu, B., Ahn, J. W., & Fang, B. (2021). Mechanism for phosphorus removal from wastewater with fly ash of municipal solid waste incineration, Seoul, Korea. *Journal of Cleaner Production*, 280, 124430.

Guerrero, J., Guisasola, A., & Baeza, J. A. (2011). The nature of the carbon source rules the competition between PAO and denitrifiers in systems for simultaneous biological nitrogen and phosphorus removal. *Water Research*, 45(16), 4793-4802.

Guo, J., Peng, Y., Wang, S., Zheng, Y., Huang, H., & Wang, Z. (2009). Long-term effect of dissolved oxygen on partial nitrification performance and microbial community structure. *Bioresource technology*, 100(11), 2796-2802.

- Guo, Y., Zeng, W., Li, N., & Peng, Y. (2018). Effect of electron acceptor on community structures of denitrifying polyphosphate accumulating organisms in anaerobic-anoxic-oxic (A2O) process using DNA based stable-isotope probing (DNA-SIP). *Chemical Engineering Journal*, 334, 2039-2049.
- Gustavsson, D. J. I., Syd, V. A., & Malmö, S. (2010). Biological sludge liquor treatment at municipal wastewater treatment plants—a review. *Vatten*, 66(3), 179-192.
- Hanson, A. M., & Lee, G. F. (1971). Forms of organic nitrogen in domestic wastewater. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 2271-2279.
- He, S., & McMahon, K. D. (2011). Microbiology of 'Candidatus Accumulibacter' in activated sludge. *Microbial biotechnology*, 4(5), 603-619.
- He, S., Gall, D. L., & McMahon, K. D. (2007). "Candidatus Accumulibacter" population structure in enhanced biological phosphorus removal sludges as revealed by polyphosphate kinase genes. *Applied and environmental microbiology*, 73(18), 5865-5874.
- Hellinga, C. S. A. A. J. C., Schellen, A. A. J. C., Mulder, J. W., van Loosdrecht, M. V., & Heijnen, J. J. (1998). The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water science and technology*, 37(9), 135-142.
- Hellinga, C., Van Loosdrecht, M. C. M., & Heijnen, J. J. (1999). Model based design of a novel process for nitrogen removal from concentrated flows. *Mathematical and computer modelling of dynamical systems*, 5(4), 351-371.
- Hesselmann, R. P. X., Von Rummell, R., Resnick, S. M., Hany, R., & Zehnder, A. J. B. (2000). Anaerobic metabolism of bacteria performing enhanced biological phosphate removal. *Water Research*, 34(14), 3487-3494.
- Hesselmann, R. P., Werlen, C., Hahn, D., van der Meer, J. R., & Zehnder, A. J. (1999). Enrichment, phylogenetic analysis and detection of a bacterium that performs enhanced biological phosphate removal in activated sludge. *Systematic and Applied Microbiology*, 22(3), 454-465.
- Hinze, H., & Holzer, H. (1985). Accumulation of nitrite and sulfite in yeast cells and synergistic depletion of the intracellular ATP content. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 180(2), 117-120.
- Hinze, H., & Holzer, H. (1986). Analysis of the energy metabolism after incubation of *Saccharomyces cerevisiae* with sulfite or nitrite. *Archives of microbiology*, 145(1), 27-31.
- Hu, J. Y., Ong, S. L., Ng, W. J., Lu, F., & Fan, X. J. (2003). A new method for characterizing denitrifying phosphorus removal bacteria by using three different types of electron acceptors. *Water Research*, 37(14), 3463-3471.
- Hu, Z. R., Wentzel, M. C., & Ekama, G. A. (2002). Anoxic growth of phosphate-accumulating organisms (PAOs) in biological nutrient removal activated sludge systems. *Water Research*, 36(19), 4927-4937.
- Huang, F., Pan, L., He, Z., Zhang, M., & Zhang, M. (2020). Identification, interactions, nitrogen removal pathways and performances of culturable heterotrophic nitrification-aerobic denitrification

bacteria from mariculture water by using cell culture and metagenomics. *Science of The Total Environment*, 732, 139268.

IPCC, 2007. "Climate Change 2007: The Physical Science Basis. " Cambridge University Press, Cambridge (2007)

Jabari, P., Munz, G., & Oleszkiewicz, J. A. (2014). Selection of denitrifying phosphorous accumulating organisms in IFAS systems: comparison of nitrite with nitrate as an electron acceptor. *Chemosphere*, 109, 20-27.

Jeon, C. O., Lee, D. S., Lee, M. W., & Park, J. M. (2001). Enhanced biological phosphorus removal in an anaerobic-aerobic sequencing batch reactor: effect of pH. *Water environment research*, 73(3), 301-306.

Jetten, M. S., Niftrik, L. V., Strous, M., Kartal, B., Keltjens, J. T., & Op den Camp, H. J. (2009). Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 44(2-3), 65-84.

Jiang, G., Gutierrez, O., & Yuan, Z. (2011). The strong biocidal effect of free nitrous acid on anaerobic sewer biofilms. *Water research*, 45(12), 3735-3743.

Kapagiannidis, A. G., Zafiriadis, I., & Aivasidis, A. (2013). Comparison between aerobic and anoxic metabolism of denitrifying-EBPR sludge: effect of biomass poly-hydroxyalkanoates content. *New biotechnology*, 30(2), 227-237.

Kayhanian, M. (1999). Ammonia inhibition in high-solids biogasification: an overview and practical solutions. *Environmental technology*, 20(4), 355-365.

Kim, D. J., Lee, D. I., & Keller, J. (2006). Effect of temperature and free ammonia on nitrification and nitrite accumulation in landfill leachate and analysis of its nitrifying bacterial community by FISH. *Bioresource technology*, 97(3), 459-468.

Kim, D. S., Jung, N. S., & Park, Y. S. (2008). Characteristics of nitrogen and phosphorus removal in SBR and SBBR with different ammonium loading rates. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 25(4), 793-800.

Klüber, H. D., & Conrad, R. (1998). Inhibitory effects of nitrate, nitrite, NO and N₂O on methanogenesis by *Methanosarcina barkeri* and *Methanobacterium bryantii*. *FEMS Microbiology Ecology*, 25(4), 331-339.

Kodera, H., Hatamoto, M., Abe, K., Kandaichi, T., Ozaki, N., & Ohashi, A. (2013). Phosphate recovery as concentrated solution from treated wastewater by a PAO-enriched biofilm reactor. *Water research*, 47(6), 2025-2032.

Kong, Y., Nielsen, J. L., & Nielsen, P. H. (2004). Microautoradiographic study of Rhodocyclus-related polyphosphate-accumulating bacteria in full-scale enhanced biological phosphorus removal plants. *Applied and environmental microbiology*, 70(9), 5383-5390.

- Kong, Y., Ong, S. L., Ng, W. J., & Liu, W. T. (2002). Diversity and distribution of a deeply branched novel proteobacterial group found in anaerobic-aerobic activated sludge processes. *Environmental Microbiology*, 4(11), 753-757.
- Kroiss, H., Rechberger, H., & Egle, L. (2011). Phosphorus in water quality and waste management. In *Integrated Waste Management-Volume II* (pp. 181-214). IntechOpen.
- Kuba, T. M. C. M., Van Loosdrecht, M. C. M., & Heijnen, J. J. (1996). Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system. *Water research*, 30(7), 1702-1710.
- Kuba, T. M. C. M., Van Loosdrecht, M. C. M., Brandse, F. A., & Heijnen, J. J. (1997). Occurrence of denitrifying phosphorus removing bacteria in modified UCT-type wastewater treatment plants. *Water Research*, 31(4), 777-786.
- Law, Y., Ye, L., Wang, Q., Hu, S., Pijuan, M., & Yuan, Z. (2015). Producing free nitrous acid—A green and renewable biocidal agent—From anaerobic digester liquor. *Chemical Engineering Journal*, 259, 62-69.
- Lee, D., Kim, M., & Chung, J. (2007). Relationship between solid retention time and phosphorus removal in anaerobic-intermittent aeration process. *Journal of bioscience and bioengineering*, 103(4), 338-344.
- Lee, H., & Yun, Z. (2014). Comparison of biochemical characteristics between PAO and DPAO sludges. *Journal of Environmental Sciences*, 26(6), 1340-1347.
- Lemos, P. C., Dai, Y., Yuan, Z., Keller, J., Santos, H., & Reis, M. A. (2007). Elucidation of metabolic pathways in glycogen-accumulating organisms with in vivo ^{13}C nuclear magnetic resonance. *Environmental microbiology*, 9(11), 2694-2706.
- Levantesi, C., Serafim, L.S., Crocetti, G.R., Lemos, P.C., Rossetti, S., Blackall, L.L., Reis, M.A. and Tandoi, V. (2002). Analysis of the microbial community structure and function of a laboratory scale enhanced biological phosphorus removal reactor. *Environmental microbiology*, 4(10), pp.559-569.
- Levenspiel, O. (1980). The Monod equation: a revisit and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnology and bioengineering*, 22(8), 1671-1687.
- Li, L., Pang, H., He, J., & Zhang, J. (2019). Characterization of phosphorus species distribution in waste activated sludge after anaerobic digestion and chemical precipitation with Fe^{3+} and Mg^{2+} . *Chemical Engineering Journal*, 373, 1279-1285.
- Li, N., Ren, N. Q., Wang, X. H., & Kang, H. (2010). Effect of temperature on intracellular phosphorus absorption and extra-cellular phosphorus removal in EBPR process. *Bioresource technology*, 101(15), 6265-6268.
- Li, N., Wang, X., Ren, N., Zhang, K., Kang, H., & You, S. (2008). Effects of solid retention time (SRT) on sludge characteristics in enhanced biological phosphorus removal (EBPR) reactor. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 22(4), 453-458.

- Li, Y., Nan, X., Li, D., Wang, L., Xu, R., & Li, Q. (2021). Advances in the treatment of phosphorus-containing wastewater. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 647, No. 1, p. 012163). IOP Publishing.
- Li, Y., Rahman, S. M., Li, G., Fowle, W., Nielsen, P. H., & Gu, A. Z. (2018b). The composition and implications of polyphosphate-metal in enhanced biological phosphorus removal systems. *Environmental science & technology*, 53(3), 1536-1544.
- Liu, Y., Ngo, H. H., Guo, W., Peng, L., Wang, D., & Ni, B. (2019). The roles of free ammonia (FA) in biological wastewater treatment processes: A review. *Environment international*, 123, 10-19.
- Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., & van Loosdrecht, M. C. (2008a). Factors affecting the microbial populations at full-scale enhanced biological phosphorus removal (EBPR) wastewater treatment plants in The Netherlands. *Water research*, 42(10-11), 2349-2360.
- Lopez-Vazquez, C. M., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., & van Loosdrecht, M. C. (2009a). Temperature effects on glycogen accumulating organisms. *water research*, 43(11), 2852-2864.
- Lopez-Vazquez, C. M., Oehmen, A., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Gijzen, H. J., Yuan, Z., & van Loosdrecht, M. C. (2009b). Modeling the PAO–GAO competition: effects of carbon source, pH and temperature. *Water Research*, 43(2), 450-462.
- Lopez-Vazquez, C. M., Song, Y. I., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Moussa, M. S., Gijzen, H. J., & van Loosdrecht, M. C. (2008b). Temperature effects on the aerobic metabolism of glycogen-accumulating organisms. *Biotechnology and bioengineering*, 101(2), 295-306.
- Lopez-Vazquez, C. M., Song, Y. I., Hooijmans, C. M., Brdjanovic, D., Moussa, M. S., Gijzen, H. J., & Van Loosdrecht, M. M. (2007). Short-term temperature effects on the anaerobic metabolism of glycogen accumulating organisms. *Biotechnology and bioengineering*, 97(3), 483-495.
- Lu, H., Oehmen, A., Viridis, B., Keller, J., & Yuan, Z. (2006). Obtaining highly enriched cultures of *Candidatus Accumulibacter phosphatus* through alternating carbon sources. *Water Research*, 40(20), 3838-3848.
- Ma, B., Wang, S., Cao, S., Miao, Y., Jia, F., Du, R., & Peng, Y. (2016). Biological nitrogen removal from sewage via anammox: recent advances. *Bioresource technology*, 200, 981-990.
- Ma, J., Yang, Q., Wang, S., Wang, L., Takigawa, A., & Peng, Y. (2010). Effect of free nitrous acid as inhibitors on nitrate reduction by a biological nutrient removal sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 175(1-3), 518-523.
- Mahvi, A. H. (2008). Sequencing batch reactor: a promising technology in wastewater treatment.
- Mandel, A., Zekker, I., Jaagura, M., & Tenno, T. (2019). Enhancement of anoxic phosphorus uptake of denitrifying phosphorus removal process by biomass adaption. *International journal of environmental science and technology*, 16(10), 5965-5978.
- Martin, B. D., Parsons, S. A., & Jefferson, B. (2009). Removal and recovery of phosphate from municipal wastewaters using a polymeric anion exchanger bound with hydrated ferric oxide nanoparticles. *Water Science and Technology*, 60(10), 2637-2645.

- Martín, H.G., Ivanova, N., Kunin, V., Warnecke, F., Barry, K.W., McHardy, A.C., Yeates, C., He, S., Salamov, A.A., Szeto, E. & Dalin, E. (2006). Metagenomic analysis of two enhanced biological phosphorus removal (EBPR) sludge communities. *Nature biotechnology*, 24(10), pp.1263-1269.
- Martinelle, K., & Häggström, L. (1993). Mechanisms of ammonia and ammonium ion toxicity in animal cells: transport across cell membranes. *Journal of biotechnology*, 30(3), 339-350.
- McCarty, P. L. (2018). What is the best biological process for nitrogen removal: when and why?.
- McCarty, P. L., & McKinney, R. E. (1961). Salt toxicity in anaerobic digestion. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 399-415.
- McQueen, A., & Bailey, J. E. (1990). Effect of ammonium ion and extracellular pH on hybridoma cell metabolism and antibody production. *Biotechnology and bioengineering*, 35(11), 1067-1077.
- Meinhold, J., Arnold, E., & Isaacs, S. (1999). Effect of nitrite on anoxic phosphate uptake in biological phosphorus removal activated sludge. *Water Research*, 33(8), 1871-1883.
- Meyer, R. L., Saunders, A. M., & Blackall, L. L. (2006). Putative glycogen-accumulating organisms belonging to the Alphaproteobacteria identified through rRNA-based stable isotope probing. *Microbiology*, 152(2), 419-429.
- Mino, T. M. C. M., Van Loosdrecht, M. C. M., & Heijnen, J. J. (1998). Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water research*, 32(11), 3193-3207.
- Mino, T., & Matsuo, T. (1984). Principal mechanism of biological phosphate removal. *Jpn. J. Water Pollut. Res*, 7, 605-609.
- Mino, T., Arun, V., Tsuzuki, Y., & Matsuo, T. (1987). Effect of phosphorus accumulation on acetate metabolism in the biological phosphorus removal process. In *Biological phosphate removal from wastewaters* (pp. 27-38). Pergamon.
- Mino, T., Liu, W. T., Kurisu, F., & Matsuo, T. (1995). Modelling glycogen storage and denitrification capability of microorganisms in enhanced biological phosphate removal processes. *Water Science and Technology*, 31(2), 25-34.
- Mino, T., Satoh, H., & Matsuo, T. (1994). Metabolisms of different bacterial populations in enhanced biological phosphate removal processes. *Water Science and Technology*, 29(7), 67-70.
- Moriasi, D. N., Arnold, J. G., Van Liew, M. W., Bingner, R. L., Harmel, R. D., & Veith, T. L. (2007). Model evaluation guidelines for systematic quantification of accuracy in watershed simulations. *Transactions of the ASABE*, 50(3), 885-900.
- Morse, G. K., Brett, S. W., Guy, J. A., & Lester, J. N. (1998). Phosphorus removal and recovery technologies. *Science of the total environment*, 212(1), 69-81.
- Mortensen, H. D., Jacobsen, T., Koch, A. G., & Arneborg, N. (2008). Intracellular pH homeostasis plays a role in the tolerance of *Debaryomyces hansenii* and *Candida zeylanoides* to acidified nitrite. *Applied and environmental microbiology*, 74(15), 4835.

- Müller, T., Walter, B., Wirtz, A., & Burkovski, A. (2006). Ammonium toxicity in bacteria. *Current microbiology*, 52(5), 400-406.
- Neethling, J., Bakke, B., Benisch, M., Gu, A., Stephens, H., Stensel, H. D., & Moore, R. (2005). Factors influencing the reliability of enhanced biological phosphorus removal. Report 01CTS3. Water Environment Research Foundation, Alexandria, VA.
- Nielsen, P. H., McIlroy, S. J., Albertsen, M., & Nierychlo, M. (2019). Re-evaluating the microbiology of the enhanced biological phosphorus removal process. *Current opinion in biotechnology*, 57, 111-118.
- Nielsen, P.H., Mielczarek, A.T., Kragelund, C., Nielsen, J.L., Saunders, A.M., Kong, Y., Hansen, A.A. & Vollertsen, J. (2010). A conceptual ecosystem model of microbial communities in enhanced biological phosphorus removal plants. *Water research*, 44(17), pp.5070-5088.
- Noutsopoulos, C., Mamais, D., Statiris, E., Lerias, E., Malamis, S., & Andreadakis, A. (2018). Reject water characterization and treatment through short-cut nitrification/denitrification: assessing the effect of temperature and type of substrate. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 93(12), 3638-3647.
- Oehmen, A., Carvalho, G., Lopez-Vazquez, C. M., Van Loosdrecht, M. C. M., & Reis, M. A. M. (2010a). Incorporating microbial ecology into the metabolic modelling of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water research*, 44(17), 4992-5004.
- Oehmen, A., Lemos, P. C., Carvalho, G., Yuan, Z., Keller, J., Blackall, L. L., & Reis, M. A. (2007). Advances in enhanced biological phosphorus removal: from micro to macro scale. *Water research*, 41(11), 2271-2300.
- Oehmen, A., Lopez-Vazquez, C. M., Carvalho, G., Reis, M. A. M., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2010b). Modelling the population dynamics and metabolic diversity of organisms relevant in anaerobic/anoxic/aerobic enhanced biological phosphorus removal processes. *Water research*, 44(15), 4473-4486.
- Oehmen, A., Saunders, A. M., Vives, M. T., Yuan, Z., & Keller, J. (2006a). Competition between polyphosphate and glycogen accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems with acetate and propionate as carbon sources. *Journal of Biotechnology*, 123(1), 22-32.
- Oehmen, A., Vives, M. T., Lu, H., Yuan, Z., & Keller, J. (2005a). The effect of pH on the competition between polyphosphate-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. *Water Research*, 39(15), 3727-3737.
- Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L. L., & Keller, J. (2004). Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Science and Technology*, 50(10), 139-144.
- Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L. L., & Keller, J. (2005b). Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Biotechnology and bioengineering*, 91(2), 162-168.

- Oehmen, A., Zeng, R. J., Saunders, A. M., Blackall, L. L., Keller, J., & Yuan, Z. (2006b). Anaerobic and aerobic metabolism of glycogen-accumulating organisms selected with propionate as the sole carbon source. *Microbiology*, 152(9), 2767-2778.
- Oehmen, A., Zeng, R. J., Yuan, Z., & Keller, J. (2005c). Anaerobic metabolism of propionate by polyphosphate-accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 91(1), 43-53.
- O'Leary, V. I. R. G. I. N. I. A., & Solberg, M. Y. R. O. N. (1976). Effect of sodium nitrite inhibition on intracellular thiol groups and on the activity of certain glycolytic enzymes in *Clostridium perfringens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 31(2), 208-212.
- Ong, Y. H., Chua, A. S. M., Fukushima, T., Ngoh, G. C., Shoji, T., & Michinaka, A. (2014). High-temperature EBPR process: The performance, analysis of PAOs and GAOs and the fine-scale population study of *Candidatus "Accumulibacter phosphatis"*. *Water research*, 64, 102-112.
- Panswad, T., Doungchai, A., & Anotai, J. (2003). Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Research*, 37(2), 409-415.
- Park, S., & Bae, W. (2009). Modeling kinetics of ammonium oxidation and nitrite oxidation under simultaneous inhibition by free ammonia and free nitrous acid. *Process Biochemistry*, 44(6), 631-640.
- Park, S., Chung, J., Rittmann, B. E., & Bae, W. (2015). Nitrite accumulation from simultaneous free-ammonia and free-nitrous-acid inhibition and oxygen limitation in a continuous-flow biofilm reactor. *Biotechnology and bioengineering*, 112(1), 43-52.
- Peng, Y. Z., Wang, X. L., & Li, B. K. (2006). Anoxic biological phosphorus uptake and the effect of excessive aeration on biological phosphorus removal in the A2O process. *Desalination*, 189(1-3), 155-164.
- Pereira, H., Lemos, P. C., Reis, M. A., Crespo, J. P., Carrondo, M. J., & Santos, H. (1996). Model for carbon metabolism in biological phosphorus removal processes based on *in vivo* ¹³C-NMR labelling experiments. *Water Research*, 30(9), 2128-2138.
- Peterson, S. B., Warnecke, F., Madejska, J., McMahon, K. D., & Hugenholtz, P. (2008). Environmental distribution and population biology of *Candidatus Accumulibacter*, a primary agent of biological phosphorus removal. *Environmental microbiology*, 10(10), 2692-2703.
- Petriglieri, F., Petersen, J.F., Peces, M., Nierychlo, M., Hansen, K., Baastrand, C.B., Nielsen, U.G., Reitzel, K. and Nielsen, P.H. (2021). Quantification of biologically and chemically bound phosphorus in activated sludge from full-scale plants with biological P-removal. *bioRxiv*, pp.2021-01.
- Philips, S., Laanbroek, H. J., & Verstraete, W. (2002). Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. *Reviews in environmental science and biotechnology*, 1(2), 115-141.
- Pijuan, M., & Yuan, Z. (2010a). Development and optimization of a sequencing batch reactor for nitrogen and phosphorus removal from abattoir wastewater to meet irrigation standards. *Water Science and Technology*, 61(8), 2105-2112.

- Pijuan, M., Baeza, J. A., Casas, C., & Lafuente, J. (2004). Response of an EBPR population developed in an SBR with propionate to different carbon sources. *Water Science and Technology*, 50(10), 131-138.
- Pijuan, M., Ye, L., & Yuan, Z. (2010b). Free nitrous acid inhibition on the aerobic metabolism of polyphosphate accumulating organisms. *Water research*, 44(20), 6063-6072.
- Prakash, B., Fakhrul, F., Hasbi, M., Rahim, A., Gaanty Pragas, M., & Natanamurugaraj, G. (2021). Removal of nitrogen and phosphorus from agro-industrial wastewater by using microalgae collected from coastal region of peninsular Malaysia.
- Puyol, D., Carvajal-Arroyo, J. M., Sierra-Alvarez, R., & Field, J. A. (2014). Nitrite (not free nitrous acid) is the main inhibitor of the anammox process at common pH conditions. *Biotechnology letters*, 36(3), 547-551.
- Qian, W., Peng, Y., Li, X., Zhang, Q., & Ma, B. (2017). The inhibitory effects of free ammonia on ammonia oxidizing bacteria and nitrite oxidizing bacteria under anaerobic condition. *Bioresource technology*, 243, 1247-1250.
- Rahimi, S., Modin, O., & Mijakovic, I. (2020). Technologies for biological removal and recovery of nitrogen from wastewater. *Biotechnology Advances*, 107570.
- Rajagopal, R., Massé, D. I., & Singh, G. (2013). A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource technology*, 143, 632-641.
- Ramasahayam, S. K., Guzman, L., Gunawan, G., & Viswanathan, T. (2014). A comprehensive review of phosphorus removal technologies and processes. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, 51(6), 538-545.
- Reeves, T. G. (1972). Nitrogen removal: a literature review. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 1895-1908.
- Renuka, N., Sood, A., Ratha, S. K., Prasanna, R., & Ahluwalia, A. S. (2013). Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production. *Journal of applied phycology*, 25(5), 1529-1537.
- Rezvani, F., Sarrafzadeh, M. H., Ebrahimi, S., & Oh, H. M. (2019). Nitrate removal from drinking water with a focus on biological methods: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(2), 1124-1141.
- Ribera-Guardia, A., Marques, R., Arangio, C., Carvalheira, M., Oehmen, A., & Pijuan, M. (2016). Distinctive denitrifying capabilities lead to differences in N₂O production by denitrifying polyphosphate accumulating organisms and denitrifying glycogen accumulating organisms. *Bioresource technology*, 219, 106-113.
- Roots, P., Rosenthal, A., Wang, Y., Sabba, F., Jia, Z., Yang, F., Zhang, H., Kozak, J. and Wells, G. (2020). Pushing the limits of solids retention time for enhanced biological phosphorus removal: process characteristics and *Accumulibacter* population structure. *Water Science and Technology*, 82(8), pp.1614-1627.

- Rotenberg, H. (1990). Decoupling of oxidative phosphorylation and photophosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1018(1), 1-17.
- Saito, T., Brdjanovic, D., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2004). Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms. *Water Research*, 38(17), 3760-3768.
- Saunders, A. M., Oehmen, A., Blackall, L. L., Yuan, Z., & Keller, J. (2003). The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants. *Water Science and Technology*, 47(11), 37-43.
- Schuler, A. J., & Jenkins, D. (2003). Enhanced biological phosphorus removal from wastewater by biomass with different phosphorus contents, part III: anaerobic sources of reducing equivalents. *Water environment research*, 75(6), 512-522.
- Scott, R. (2012). *Understanding the Basic Principles of Nitrogen*. Connecticut Water Pollution Abatement Association.
- Sedlak (1999). *Phosphorus and Nitrogen Removal, Practical Waste water Treatment*. New York: Lewis Publishers, 1991.
- Sengupta, S., & Pandit, A. (2011). Selective removal of phosphorus from wastewater combined with its recovery as a solid-phase fertilizer. *Water research*, 45(11), 3318-3330.
- Sengupta, S., Nawaz, T., & Beaudry, J. (2015). Nitrogen and phosphorus recovery from wastewater. *Current Pollution Reports*, 1(3), 155-166.
- Serralta, J., Borrás, L., Blanco, C., Barat, R., & Seco, A. (2004). Monitoring pH and electric conductivity in an EBPR sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*, 50(10), 145-152.
- Serralta, J., Ferrer, J., Borrás, L., & Seco, A. (2006). Effect of pH on biological phosphorus uptake. *Biotechnology and bioengineering*, 95(5), 875-882.
- Seviour, R. J., Mino, T., & Onuki, M. (2003). The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems. *FEMS microbiology reviews*, 27(1), 99-127.
- Shi, X., Lin, J., Zuo, J., Li, P., Li, X., & Guo, X. (2017). Effects of free ammonia on volatile fatty acid accumulation and process performance in the anaerobic digestion of two typical bio-wastes. *Journal of Environmental Sciences*, 55, 49-57.
- Shoji, T., Satoh, H., & Mino, T. (2003). Quantitative estimation of the role of denitrifying phosphate accumulating organisms in nutrient removal. *Water science and technology*, 47(11), 23-29.
- Sijbesma, W. F., Almeida, J. S., Reis, M. A., & Santos, H. (1996). Uncoupling effect of nitrite during denitrification by *Pseudomonas fluorescens*: An in vivo ³¹P-NMR study. *Biotechnology and bioengineering*, 52(1), 176-182.
- Singh, M., & Srivastava, R. K. (2011). Sequencing batch reactor technology for biological wastewater treatment: a review. *Asia-pacific journal of chemical engineering*, 6(1), 3-13.
- Slater, F. R., Johnson, C. R., Blackall, L. L., Beiko, R. G., & Bond, P. L. (2010). Monitoring associations between clade-level variation, overall community structure and ecosystem function in enhanced

biological phosphorus removal (EBPR) systems using terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP). *Water Research*, 44(17), 4908-4923.

Sliemers, A. O., Haaijer, S. C., Stafsnes, M. H., Kuenen, J. G., & Jetten, M. S. (2005). Competition and coexistence of aerobic ammonium- and nitrite-oxidizing bacteria at low oxygen concentrations. *Applied microbiology and biotechnology*, 68(6), 808-817.

Song, K. G., Cho, J., & Ahn, K. H. (2009). Effects of internal recycling time mode and hydraulic retention time on biological nitrogen and phosphorus removal in a sequencing anoxic/anaerobic membrane bioreactor process. *Bioprocess and biosystems engineering*, 32(1), 135-142.

Stein, L. Y., & Klotz, M. G. (2016). The nitrogen cycle. *Current Biology*, 26(3), R94-R98.

Strom, P. F. (2006). Technologies to remove phosphorus from wastewater. *Water Rutgers*. URL: <http://www.water.rutgers.edu/Projects/trading/p-trt-lit-rev-2a> (Accessed 4 April 2013).

Strous, M., Fuerst, J.A., Kramer, E.H., Logemann, S., Muyzer, G., van de Pas-Schoonen, K.T., Webb, R., Kuenen, J.G. and Jetten, M.S. (1999a). Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature*, 400(6743), pp.446-449.

Strous, M., Kuenen, J. G., & Jetten, M. S. (1999b). Key physiology of anaerobic ammonium oxidation. *Applied and environmental microbiology*, 65(7), 3248.

Strous, M., Pelletier, E., Mangenot, S., Rattei, T., Lehner, A., Taylor, M.W., Horn, M., Daims, H., Bartol-Mavel, D., Wincker, P. and Barbe, V. (2006). Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. *Nature*, 440(7085), pp.790-794.

Tarayre, C., Nguyen, H.T., Brognaux, A., Delepierre, A., De Clercq, L., Charlier, R., Michels, E., Meers, E. and Delvigne, F. (2016). Characterisation of phosphate accumulating organisms and techniques for polyphosphate detection: a review. *Sensors*, 16(6), p.797.

Thomas, M., Wright, P., Blackall, L., Urbain, V., & Keller, J. (2003). Optimisation of Noosa BNR plant to improve performance and reduce operating costs. *Water Science and Technology*, 47(12), 141-148.

Tian, W. D., Lopez-Vazquez, C. M., Li, W. G., Brdjanovic, D., & Van Loosdrecht, M. C. M. (2013). Occurrence of PAOI in a low temperature EBPR system. *Chemosphere*, 92(10), 1314-1320.

Torà, J. A., Lafuente, J., Baeza, J. A., & Carrera, J. (2010). Combined effect of inorganic carbon limitation and inhibition by free ammonia and free nitrous acid on ammonia oxidizing bacteria. *Bioresource Technology*, 101(15), 6051-6058.

Tsuneda, S., Ohno, T., Soejima, K., & Hirata, A. (2006). Simultaneous nitrogen and phosphorus removal using denitrifying phosphate-accumulating organisms in a sequencing batch reactor. *Biochemical Engineering Journal*, 27(3), 191-196.

Ugurlu, A., & Salman, B. (1998). Phosphorus removal by fly ash. *Environment international*, 24(8), 911-918.

- Vadivelu, V. M., Keller, J., & Yuan, Z. (2006a). Effect of free ammonia and free nitrous acid concentration on the anabolic and catabolic processes of an enriched *Nitrosomonas* culture. *Biotechnology and bioengineering*, 95(5), 830-839.
- Vadivelu, V. M., Keller, J., & Yuan, Z. (2007). Effect of free ammonia on the respiration and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. *Water Research*, 41(4), 826-834.
- Vadivelu, V. M., Yuan, Z., Fux, C., & Keller, J. (2006b). Stoichiometric and kinetic characterisation of *Nitrobacter* in mixed culture by decoupling the growth and energy generation processes. *Biotechnology and bioengineering*, 94(6), 1176-1188.
- Vadivelu, V. M., Yuan, Z., Fux, C., & Keller, J. (2006c). The inhibitory effects of free nitrous acid on the energy generation and growth processes of an enriched *Nitrobacter* culture. *Environmental science & technology*, 40(14), 4442-4448.
- Vargas, M., Yuan, Z., & Pijuan, M. (2013). Effect of long-term starvation conditions on polyphosphate- and glycogen-accumulating organisms. *Bioresource technology*, 127, 126-131.
- Von Sperling, M. (2007). *Wastewater characteristics, treatment and disposal*. IWA publishing.
- Wang, D., Wang, Q., Laloo, A., Xu, Y., Bond, P. L., & Yuan, Z. (2016). Achieving stable nitrification for mainstream deammonification by combining free nitrous acid-based sludge treatment and oxygen limitation. *Scientific reports*, 6(1), 1-10.
- Wang, D.B., Li, X.M., Yang, Q., Zheng, W., Liu, Z.Y., Liu, Y.L., Cao, J.B., Yue, X., Shen, T.T., Zeng, G.M. & Deng, J.H. (2009). The probable metabolic relation between phosphate uptake and energy storages formations under single-stage oxic condition. *Bioresource technology*, 100(17), pp.4005-4011.
- Wang, L., Shen, N., Oehmen, A., & Zhou, Y. (2020). The impact of temperature on the metabolism of volatile fatty acids by polyphosphate accumulating organisms (PAOs). *Environmental Research*, 188, 109729.
- Wang, Q., Duan, H., Wei, W., Ni, B. J., Laloo, A., & Yuan, Z. (2017). Achieving stable mainstream nitrogen removal via the nitrite pathway by sludge treatment using free ammonia. *Environmental science & technology*, 51(17), 9800-9807.
- Wang, Q., Ye, L., Jiang, G., Hu, S., & Yuan, Z. (2014). Side-stream sludge treatment using free nitrous acid selectively eliminates nitrite oxidizing bacteria and achieves the nitrite pathway. *Water Research*, 55, 245-255.
- Wang, S., Peng, Y., Ma, B., Wang, S., & Zhu, G. (2015). Anaerobic ammonium oxidation in traditional municipal wastewater treatment plants with low-strength ammonium loading: widespread but overlooked. *Water research*, 84, 66-75.
- Wang, X., Zhao, J., Yu, D., Du, S., Yuan, M., & Zhen, J. (2019). Evaluating the potential for sustaining mainstream anammox by endogenous partial denitrification and phosphorus removal for energy-efficient wastewater treatment. *Bioresource technology*, 284, 302-314.
- Wang, Y., Jiang, F., Zhang, Z., Xing, M., Lu, Z., Wu, M., Yang, J., & Peng, Y. (2010). The long-term effect of carbon source on the competition between polyphosphorus accumulating organisms and glycogen

accumulating organism in a continuous plug-flow anaerobic/aerobic (A/O) process. *Bioresource technology*, 101(1), pp.98-104.

Whang, L. M., & Park, J. K. (2002). Competition between polyphosphate-and glycogen-accumulating organisms in biological phosphorus removal systems—effect of temperature. *Water Science and Technology*, 46(1-2), 191-194.

Wilfert, P., Kumar, P. S., Korving, L., Witkamp, G. J., & Van Loosdrecht, M. C. (2015). The relevance of phosphorus and iron chemistry to the recovery of phosphorus from wastewater: a review. *Environmental science & technology*, 49(16), 9400-9414.

Wong, M. T., Mino, T., Seviour, R. J., Onuki, M., & Liu, W. T. (2005). In situ identification and characterization of the microbial community structure of full-scale enhanced biological phosphorous removal plants in Japan. *Water Research*, 39(13), 2901-2914.

Xia, W.J., Guo, L.X., Yu, L.Q., Zhang, Q., Xiong, J.R., Zhu, X.Y., Wang, X.C., Huang, B.C. and Jin, R.C. (2021). Phosphorus removal from diluted wastewaters using a La/C nanocomposite-doped membrane with adsorption-filtration dual functions. *Chemical Engineering Journal*, 405, p.126924.

Xu, Q., Liu, X., Fu, Y., Li, Y., Wang, D., Wang, Q., Liu, Y., An, H., Zhao, J., Wu, Y. & Li, X. (2018a). Feasibility of enhancing short-chain fatty acids production from waste activated sludge after free ammonia pretreatment: role and significance of rhamnolipid. *Bioresource technology*, 267, pp.141-148.

Xu, Q., Liu, X., Wang, D., Wu, Y., Wang, Q., Liu, Y., Li, X., An, H., Zhao, J., Chen, F., & Zhong, Y. (2018b). Free ammonia-based pretreatment enhances phosphorus release and recovery from waste activated sludge. *Chemosphere*, 213, pp.276-284.

Yang, G., Xu, Q., Wang, D., Tang, L., Xia, J., Wang, Q., Zeng, G., Yang, Q. and Li, X. (2018). Free ammonia-based sludge treatment reduces sludge production in the wastewater treatment process. *Chemosphere*, 205, pp.484-492.

Yang, Q., Peng, Y., Liu, X., Zeng, W., Mino, T., & Satoh, H. (2007). Nitrogen removal via nitrite from municipal wastewater at low temperatures using real-time control to optimize nitrifying communities. *Environmental science & technology*, 41(23), 8159-8164.

Yang, W., Vollertsen, J., & Hvitved-Jacobsen, T. (2003). Nitrite accumulation in the treatment of wastewaters with high ammonia concentration. *Water science and technology*, 48(3), 135-141.

Yarbrough, J. M., Rake, J. B., & Eagon, R. G. (1980). Bacterial inhibitory effects of nitrite: inhibition of active transport, but not of group translocation, and of intracellular enzymes. *Applied and environmental microbiology*, 39(4), 831-834.

Ye, L., Pijuan, M., & Yuan, Z. (2010). The effect of free nitrous acid on the anabolic and catabolic processes of glycogen accumulating organisms. *Water research*, 44(9), 2901-2909.

Ye, L., Pijuan, M., & Yuan, Z. (2013). The effect of free nitrous acid on key anaerobic processes in enhanced biological phosphorus removal systems. *Bioresource technology*, 130, 382-389.

- Yenigün, O., & Demirel, B. (2013). Ammonia inhibition in anaerobic digestion: a review. *Process Biochemistry*, 48(5-6), 901-911.
- Yoon, T. I., Lee, H. S., & Kim, C. G. (2004). Comparison of pilot scale performances between membrane bioreactor and hybrid conventional wastewater treatment systems. *Journal of Membrane Science*, 242(1-2), 5-12.
- Yoshida, Y., Takahashi, K., Saito, T., & Tanaka, K. (2006). The effect of nitrite on aerobic phosphate uptake and denitrifying activity of phosphate-accumulating organisms. *Water science and technology*, 53(6), 21-27.
- Yuan, Q., & Oleszkiewicz, J. A. (2011). Effect of Dissolved Oxygen on Biological Nutrient Removal by Denitrifying Phosphorus-Accumulating Organisms in a Continuous-Flow System. *Water environment research*, 83(11), 2107-2114.
- Zeng, F., Jin, W., & Zhao, Q. (2019). Temperature effect on extracellular polymeric substances (EPS) and phosphorus accumulating organisms (PAOs) for phosphorus release of anaerobic sludge. *RSC advances*, 9(4), 2162-2171.
- Zeng, R. J., Van Loosdrecht, M. C., Yuan, Z., & Keller, J. (2003a). Metabolic model for glycogen-accumulating organisms in anaerobic/aerobic activated sludge systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 81(1), 92-105.
- Zeng, R. J., Yuan, Z., & Keller, J. (2003b). Enrichment of denitrifying glycogen-accumulating organisms in anaerobic/anoxic activated sludge system. *Biotechnology and bioengineering*, 81(4), 397-404.
- Zeng, W., Bai, X., Guo, Y., Li, N., & Peng, Y. (2017). Interaction of “*Candidatus Accumulibacter*” and nitrifying bacteria to achieve energy-efficient denitrifying phosphorus removal via nitrite pathway from sewage. *Enzyme and microbial technology*, 105, 1-8.
- Zeng, W., Li, B., Wang, X., Bai, X., & Peng, Y. (2016a). Influence of nitrite accumulation on “*Candidatus Accumulibacter*” population structure and enhanced biological phosphorus removal from municipal wastewater. *Chemosphere*, 144, 1018-1025.
- Zeng, W., Li, B., Yang, Y., Wang, X., Li, L., & Peng, Y. (2014). Impact of nitrite on aerobic phosphorus uptake by poly-phosphate accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal sludges. *Bioprocess and biosystems engineering*, 37(2), 277-287.
- Zeng, W., Li, L., Yang, Y., Wang, S., & Peng, Y. (2010). Nitritation and denitritation of domestic wastewater using a continuous anaerobic–anoxic–aerobic (A2O) process at ambient temperatures. *Bioresource Technology*, 101(21), 8074-8082.
- Zeng, W., Wang, A., Zhang, J., Zhang, L., & Peng, Y. (2016b). Enhanced biological phosphate removal from wastewater and clade-level population dynamics of “*Candidatus Accumulibacter phosphatis*” under free nitrous acid inhibition: linked with detoxication. *Chemical Engineering Journal*, 296, 234-242.
- Zengin, G. E., Artan, N., Orhon, D., Chua, A. S., Satoh, H., & Mino, T. (2010). Population dynamics in a sequencing batch reactor fed with glucose and operated for enhanced biological phosphorus removal. *Bioresource technology*, 101(11), 4000-4005.

- Zhang, C., Chen, Y., & Liu, Y. (2007). The long-term effect of initial pH control on the enrichment culture of phosphorus-and glycogen-accumulating organisms with a mixture of propionic and acetic acids as carbon sources. *Chemosphere*, 69(11), 1713-1721.
- Zhang, C., Qin, Y., Xu, Q., Liu, X., Liu, Y., Ni, B.J., Yang, Q., Wang, D., Li, X. and Wang, Q. (2018). Free ammonia-based pretreatment promotes short-chain fatty acid production from waste activated sludge. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(7), pp.9120-9129.
- Zhang, L., & Okabe, S. (2020a). Ecological niche differentiation among anammox bacteria. *Water research*, 171, 115468.
- Zhang, M., Wang, Y., Fan, Y., Liu, Y., Yu, M., He, C., & Wu, J. (2020b). Bioaugmentation of low C/N ratio wastewater: Effect of acetate and propionate on nutrient removal, substrate transformation, and microbial community behavior. *Bioresource technology*, 306, 122465.
- Zhang, T., Liu, Y., & Fang, H. H. (2005). Effect of pH change on the performance and microbial community of enhanced biological phosphate removal process. *Biotechnology and bioengineering*, 92(2), 173-182.
- Zhao, D., & Sengupta, A. K. (1998). Ultimate removal of phosphate from wastewater using a new class of polymeric ion exchangers. *Water Research*, 32(5), 1613-1625.
- Zhao, J., Liu, Y., Wang, Y., Lian, Y., Wang, Q., Yang, Q., Wang, D., Xie, G.J., Zeng, G., Sun, Y., & Li, X. (2018). Clarifying the role of free ammonia in the production of short-chain fatty acids from waste activated sludge anaerobic fermentation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(11), pp.14104-14113.
- Zheng, M., Wang, Z., Meng, J., Hu, Z., Liu, Y., Yuan, Z., & Hu, S. (2021). Inactivation kinetics of nitrite-oxidizing bacteria by free nitrous acid. *Science of the Total Environment*, 752, 141876.
- Zheng, M., Zuo, Z., Zhang, Y., Cui, Y., Dong, Q., Liu, Y., Huang, X. & Yuan, Z., (2017). Nitrite production from urine for sulfide control in sewers. *Water research*, 122, pp.447-454.
- Zheng, X., Sun, P., Han, J., Song, Y., Hu, Z., Fan, H., & Lv, S. (2014). Inhibitory factors affecting the process of enhanced biological phosphorus removal (EBPR)—a mini-review. *Process Biochemistry*, 49(12), 2207-2213.
- Zheng, X., Sun, P., Lou, J., Cai, J., Song, Y., Yu, S., & Lu, X. (2013a). Inhibition of free ammonia to the granule-based enhanced biological phosphorus removal system and the recoverability. *Bioresource technology*, 148, 343-351.
- Zheng, X., Sun, P., Lou, J., Fang, Z., Guo, M., Song, Y., Tang, X., & Jiang, T. (2013b). The long-term effect of nitrite on the granule-based enhanced biological phosphorus removal system and the reversibility. *Bioresource technology*, 132, pp.333-341.
- Zhou, S., Zhang, X., & Feng, L. (2010a). Effect of different types of electron acceptors on the anoxic phosphorus uptake activity of denitrifying phosphorus removing bacteria. *Bioresource technology*, 101(6), 1603-1610.

Zhou, Y. A. N., Pijuan, M., Zeng, R. J., & Yuan, Z. (2008a). Free nitrous acid inhibition on nitrous oxide reduction by a denitrifying-enhanced biological phosphorus removal sludge. *Environmental Science & Technology*, 42(22), 8260-8265.

Zhou, Y., Ganda, L., Lim, M., Yuan, Z., & Ng, W. J. (2012). Response of poly-phosphate accumulating organisms to free nitrous acid inhibition under anoxic and aerobic conditions. *Bioresource technology*, 116, 340-347.

Zhou, Y., Ganda, L., Lim, M., Yuan, Z., Kjelleberg, S., & Ng, W. J. (2010b). Free nitrous acid (FNA) inhibition on denitrifying poly-phosphate accumulating organisms (DPAOs). *Applied microbiology and biotechnology*, 88(1), 359-369.

Zhou, Y., Oehmen, A., Lim, M., Vadivelu, V., & Ng, W. J. (2011). The role of nitrite and free nitrous acid (FNA) in wastewater treatment plants. *Water research*, 45(15), 4672-4682.

Zhou, Y., Pijuan, M., & Yuan, Z. (2007). Free nitrous acid inhibition on anoxic phosphorus uptake and denitrification by poly-phosphate accumulating organisms. *Biotechnology and Bioengineering*, 98(4), 903-912.

Zhou, Y., Pijuan, M., & Yuan, Z. (2008b). Development of a 2-sludge, 3-stage system for nitrogen and phosphorous removal from nutrient-rich wastewater using granular sludge and biofilms. *Water research*, 42(12), 3207-3217.

Zhou, Y., Pijuan, M., Zeng, R. J., & Yuan, Z. (2009). Involvement of the TCA cycle in the anaerobic metabolism of polyphosphate accumulating organisms (PAOs). *Water research*, 43(5), 1330-1340.

Zhu, R., Wu, M., & Yang, J. (2013). Effect of sludge retention time and phosphorus to carbon ratio on biological phosphorus removal in HS-SBR process. *Environmental technology*, 34(4), 429-435.

Zielińska, M., Rusanowska, P., Jarzabek, J., & Nielsen, J. L. (2016). Community dynamics of denitrifying bacteria in full-scale wastewater treatment plants. *Environmental technology*, 37(18), 2358-2367.

Ανδρεαδάκης, Α. (2008). Επεξεργασία νερού: Βασικές Αρχές και Διεργασίες. Εκδόσεις ΣΥΜΜΕΤΡΙΑ, 2008.

Ανδρεαδάκης, Α. (2015). Επεξεργασία και διαχείριση λυμάτων και ιλύος. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 2015.

Θεμελή, Ε. (2019). Διερεύνηση μεθόδων ανάπτυξης πολυφωσφορικών βακτηρίων υπό συνθήκες υψηλού φορτίου αζώτου με παράλληλη νιτροδοποίηση-απονιτροδοποίηση. Διπλωματική εργασία, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 2019.

Καλλή, Μ. (2019). Διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στην δράση των μικροοργανισμών που σχετίζονται με την βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου. Διπλωματική εργασία, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, 2019.

Καλοπίση, Λ., Ο. (2021). Διερεύνηση βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης πολυφωσφορικών βακτηρίων σε συστήματα απομάκρυνσης αζώτου μέσω νιτροδοποίησης-απονιτροδοποίησης. Μεταπτυχιακή εργασία, Δ.Π.Μ.Σ: «Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων», Αθήνα, 2021.

Κούκουρα, Α. (2020). Διερεύνηση βέλτιστων συνθηκών επίτευξης βιολογικής απομάκρυνσης φωσφόρου σε συστήματα απομάκρυνσης αζώτου μέσω νιτρωδοποίησης-απονιτρωδοποίησης. Μεταπτυχιακή εργασία, Δ.Π.Μ.Σ: «Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων», Αθήνα, 2020.

Μαμάης, Δ. (2020). Χημική και Βιολογική Απομάκρυνση Φωσφόρου - Σημειώσεις μαθήματος: Προχωρημένες Μέθοδοι Επεξεργασίας Υγρών Αποβλήτων. Δ.Π.Μ.Σ: «Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων», Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Μισυρλή, Ι., Β., Θ. (2018). Διερεύνηση της επίδρασης του αμμωνιακού αζώτου στη βιολογική απομάκρυνση φωσφόρου σε συστήματα επεξεργασίας στραγγιδίων. Μεταπτυχιακή εργασία, Δ.Π.Μ.Σ: «Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων», Αθήνα, 2018.

Νουτσόπουλος, Κ., & Μαμάης, Δ. (2020). Καθιζησιμότητα ιλύος - Σημειώσεις μαθήματος: Προχωρημένες Μέθοδοι Επεξεργασίας Υγρών Αποβλήτων. Δ.Π.Μ.Σ: «Επιστήμη και Τεχνολογία Υδατικών Πόρων», Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Παράρτημα

I. Πειράματα batch για τη διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στη δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων σε pH = 8.5

➤ Πείραμα 1^ο

Πίνακας 1: Συνθήκες 1^{ου} πειράματος

pH	8.5
T (°C)	19.3
NH ₄ – N (mg/l)	70
NH ₃ – N (mg/l)	7.42

Πίνακας 2: Αποτελέσματα 1^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH ₄ – N = 70 mg/l)	B (NH ₄ – N = 70 mg/l)
TSS (g/l)	5.08	5.64	5.20
VSS (g/l)	3.22	3.68	3.36
Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
-1	20.85	25.43	23.61
0	76.00	75.73	73.91
0.5	69.60	58.29	65.29
1	53.11	50.82	57.35
1.5	38.90	37.01	53.98
2	24.69	26.44	39.23
2.5	14.99	15.87	24.35
PUR (mgP/gVSS/h)	8.55	5.94	5.95
Inh (%)	30.47 %		

➤ Πείραμα 2^ο

Πίνακας 3: Συνθήκες 2^{ου} πειράματος

pH	8.5
T (°C)	19.5
NH ₄ – N (mg/l)	100
NH ₃ – N (mg/l)	10.75

Πίνακας 420: Αποτελέσματα 2^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH ₄ - N = 100 mg/l)	B (NH ₄ - N = 100 mg/l)
TSS (g/l)	4.26	4.28	4.32
VSS (g/l)	2.64	2.76	2.76
Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
-1	20.85	22.67	24.69
0	71.02	64.42	61.73
0.5	54.18	54.72	55.26
1	36.34	44.35	48.12
1.5	21.19	32.90	38.63
2	9.07	29.40	31.76
2.5	4.08	18.02	23.48
PUR (mgP/gVSS/h)	12.68	6.66	5.55
Inh (%)	51.87 %		

➤ Πείραμα 3^ο

Πίνακας 521: Συνθήκες 3^{ου} πειράματος

pH	8.5
T (°C)	19.3
NH ₄ - N (mg/l)	130
NH ₃ - N (mg/l)	13.79

Πίνακας 6: Αποτελέσματα 3^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH ₄ - N = 130 mg/l)	B (NH ₄ - N = 130 mg/l)
TSS (g/l)	5.32	5.32	3.90
VSS (g/l)	3.24	3.48	2.40
Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
-1	24.49	37.35	20.04
0	85.16	97.01	62.13
0.5	74.86	100.18	60.78
1	65.70	103.21	59.23
1.5	55.06	98.43	54.79
2	46.10	96.74	46.10
2.5	30.61	87.79	43.34
PUR (mgP/gVSS/h)	6.67	1.80	3.39
Inh (%)	61.13 %		

➤ Πείραμα 4^ο

Πίνακας 7: Συνθήκες 4^{ου} πειράματος

pH	8.5
T (°C)	19.3
NH ₄ - N (mg/l)	180
NH ₃ - N (mg/l)	19.09

Πίνακας 8: Αποτελέσματα 4^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH ₄ - N = 180 mg/l)	B (NH ₄ - N = 180 mg/l)
TSS (g/l)	5.32	5.30	4.28
VSS (g/l)	3.24	3.42	2.60
Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
-1	24.49	45.16	17.15
0	85.16	106.91	65.16
0.5	74.86	113.78	64.22
1	65.70	113.85	62.47
1.5	55.06	112.90	62.06
2	46.10	112.23	61.05
2.5	30.61	109.81	56.20
PUR (mgP/gVSS/h)	6.67	0.75	1.34
Inh (%)	84.34 %		

➤ Πείραμα 5^ο

Πίνακας 922: Συνθήκες 5^{ου} πειράματος

pH	8.5
T (°C)	19.5
NH ₄ - N (mg/l)	240
NH ₃ - N (mg/l)	25.79

Πίνακας 1023: Αποτελέσματα 5^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH ₄ - N = 240 mg/l)	B (NH ₄ - N = 240 mg/l)
TSS (g/l)	4.41	4.41	4.36
VSS (g/l)	2.78	2.78	2.84
Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
-1	22.20	29.20	24.82

0	78.96	81.66	81.73
0.5	73.38	102.53	99.44
1	58.90	100.24	99.64
1.5	46.78	105.63	101.32
2	36.74	105.09	97.01
2.5	25.97	103.54	94.25
PUR (mgP/gVSS/h)	8.42	0.94	0.48
Inh (%)	91.57 %		

II. Πειράματα batch για τη διερεύνηση της επίδρασης της ελεύθερης αμμωνίας στη δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων σε pH = 8

➤ Πείραμα 1^ο

Πίνακας 1124: Συνθήκες 1^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NH₄ – N (mg/l)	140
NH₃ – N (mg/l)	5.13

Πίνακας 12: Αποτελέσματα 1^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH₄ – N = 143 mg/l)	B (NH₄ – N = 143 mg/l)
TSS (g/l)	4.72	4.98	4.52
VSS (g/l)	3.00	3.20	2.70
Time (h)	PO₄ - P (mg/l)		
-1	29.27	33.98	38.83
0	62.26	62.06	69.67
0.5	53.51	61.52	54.59
1	48.53	57.69	50.41
1.5	-	50.88	47.11
2	-	-	-
2.5	-	-	30.55
PUR (mgP/gVSS/h)	4.58	3.33	2.77
Inh (%)	33.46 %		

➤ Πείραμα 2^ο

Πίνακας 13: Συνθήκες 2^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.4
NH ₄ - N (mg/l)	160
NH ₃ - N (mg/l)	5.83

Πίνακας 14: Αποτελέσματα 2^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH ₄ - N = 155 mg/l)	B (NH ₄ - N = 155 mg/l)
TSS (g/l)	7.40	7.36	6.80
VSS (g/l)	4.94	5.08	4.72
Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
-1	30.35	46.24	44.69
0	75.73	73.11	72.57
0.5	72.97	70.41	68.73
1	67.11	64.82	66.57
1.5	55.46	60.92	58.22
2	42.20	54.12	57.69
2.5	35.73	48.80	51.49
PUR (mgP/gVSS/h)	3.52	1.96	1.78
Inh (%)	46.83 %		

➤ Πείραμα 3^ο

Πίνακας 1525: Συνθήκες 3^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NH ₄ - N (mg/l)	260
NH ₃ - N (mg/l)	9.54

Πίνακας 16: Αποτελέσματα 3^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (NH ₄ - N = 260 mg/l)	B (NH ₄ - N = 260 mg/l)
TSS (g/l)	4.96	5.16	5.18
VSS (g/l)	2.96	3.08	3.10
Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
-1	24.69	51.89	47.85
0	80.72	61.73	68.86
0.5	71.49	66.30	72.63

1	57.55	56.74	75.87
1.5	49.60	53.38	65.56
2	39.10	55.40	73.44
2.5	26.51	52.57	59.17
PUR (mgP/gVSS/h)	7.26	1.87	2.72
Inh (%)	68.36 %		

III. Πειράματα batch για την διερεύνηση του μηχανισμού αναχαίτισης της ελεύθερης αμμωνίας στη δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων

➤ Πείραμα 1^ο

Πίνακας 17: Συνθήκες 1^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NH₄ - N (mg/l)	0
NH₃ - N (mg/l)	0

Πίνακας 18: Μετρήσεις 1^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (PO₄-P = 2 ml)	B (PO₄-P = 4 ml)
PO₄ - P (ml)	0	1.5	4
VSS (g/l)	0.85	0.75	0.8
Anoxic Time (h)	PO₄ - P (mg/l)		
0	12.85	18.07	36.14
0.33	10.22	15.17	31.49
0.66	6.15	14.53	29.27
1	2.21	11.50	28.66
1.5	0.43	10.32	23.95
2	0.09	9.62	22.20
PUR (mgP/gVSS/h)	7.02	8.13	9.25

Πίνακας 19: Αποτελέσματα 1^{ου} πειράματος

	PUR_{max}^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)
C (P = 0 ml)	10.95
A (P = 2 ml)	11.17
B (P = 4 ml)	10.87
Μέση τιμή	11.00
Τυπική διακύμανση	0.16

➤ Πείραμα 2^ο

Πίνακας 20: Συνθήκες 2^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NH ₄ – N (mg/l)	67
NH ₃ – N (mg/l)	2.46

Πίνακας 21: Μετρήσεις 2^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (PO ₄ -P = 2 ml)	B (PO ₄ -P = 4 ml)
PO ₄ – P (ml)	0	1.5	4
VSS (g/l)	0.80	0.94	0.78
Anoxic Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
0	21.57	27.53	41.39
0.33	18.30	25.64	38.56
0.66	18.14	24.57	35.60
1	17.29	22.48	35.33
1.5	17.06	20.19	33.91
2	15.48	19.35	32.84
PUR (mgP/gVSS/h)	4.88	5.18	5.37

Πίνακας 22: Αποτελέσματα 2^{ου} πειράματος

	PUR_{max}^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)
C (P = 0 ml)	6.09
A (P = 2 ml)	6.18
B (P = 4 ml)	6.07
Μέση τιμή	6.11
Τυπική διακύμανση	0.06

➤ Πείραμα 3^ο

Πίνακας 23: Συνθήκες 3^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NH ₄ - N (mg/l)	340
NH ₃ - N (mg/l)	12.47

Πίνακας 24: Μετρήσεις 3^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (PO ₄ -P = 2 ml)	B (PO ₄ -P = 4 ml)
PO ₄ - P (ml)	0	1.5	4
VSS (g/l)	0.98	0.75	0.67
Anoxic Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
0	19.21	33.02	50.41
0.33	22.75	34.47	45.90
0.66	20.26	34.06	39.44
1	19.89	33.39	36.88
1.5	17.90	31.74	36.00
2	17.36	29.04	34.18
PUR (mgP/gVSS/h)	2.43	5.01	4.81

Πίνακας 25: Αποτελέσματα 3^{ου} πειράματος

	PUR _{max} ^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)
C (P = 0 ml)	2.80
A (P = 2 ml)	5.47
B (P = 4 ml)	5.12
Μέση τιμή	4.46
Τυπική διακύμανση	1.45

IV. Πειράματα batch για την διερεύνηση του μηχανισμού αναχαιτίσης του ελεύθερου νιτρώδους οξέος στη δράση των πολυφωσφορικών βακτηριδίων

➤ Πείραμα 1^ο

Πίνακας 2626: Συνθήκες 1^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NO ₂ - N (mg/l)	10
HNO ₂ ⁻ - N (μg/l)	0.26

Πίνακας 27: Μετρήσεις 1^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (PO ₄ -P = 2 ml)	B (PO ₄ -P = 4 ml)
PO ₄ - P (ml)	0	1.5	4
VSS (g/l)	1.2	0.98	1.06
Anoxic Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
0	11.3	27.1	34.0
0.25	8.9	24.5	33.3
0.5	7.4	23.4	30.3
0.75	5.7	21.8	26.5
1	5.4	20.7	23.6
PUR (mgP/gVSS/h)	6.57	7.43	12.39

Πίνακας 28: Αποτελέσματα 1^{ου} πειράματος

	PUR _{max} ^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)
C (P = 0 ml)	11.31
A (P = 2 ml)	9.44
B (P = 4 ml)	14.83
Μέση τιμή	11.86
Τυπική διακύμανση	2.73

➤ Πείραμα 2^ο

Πίνακας 29: Συνθήκες 2^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NH ₄ – N (mg/l)	40
NH ₃ – N (mg/l)	1.04

Πίνακας 30: Μετρήσεις 2^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (PO ₄ -P = 2 ml)	B (PO ₄ -P = 4 ml)
PO ₄ – P (ml)	0	1.5	4
VSS (g/l)	1.10	1.12	1.26
Anoxic Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
0	10	23.0	32.5
0.5	7.5	21.1	28.9
1	5.2	15.9	24.5
1.5	5.3	11.8	18.6
2	5.3	7.8	16.3
PUR (mgP/gVSS/h)	6.09	7.79	8.18

Πίνακας 31: Αποτελέσματα 2^{ου} πειράματος

	PUR _{max} ^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)
C (P = 0 ml)	9.87
A (P = 2 ml)	9.89
B (P = 4 ml)	9.74
Μέση τιμή	9.83
Τυπική διακύμανση	0.08

➤ Πείραμα 3^ο

Πίνακας 32: Συνθήκες 3^{ου} πειράματος

pH	8
T (°C)	19.5
NH ₄ – N (mg/l)	120
NH ₃ – N (mg/l)	3.12

Πίνακας 33: Μετρήσεις 3^{ου} πειράματος

	C (Control)	A (PO ₄ -P = 2 ml)	B (PO ₄ -P = 4 ml)
PO ₄ - P (ml)	0	1.5	4
VSS (g/l)	0.96	1.20	1.20
Anoxic Time (h)	PO ₄ - P (mg/l)		
0	14.2	29.7	39.4
0.5	13.4	28.8	38.1
1	13.2	-	36.5
1.5	12.2	26.7	-
2	13.1	26.5	32.6
PUR (mgP/gVSS/h)	1.25	1.70	3.08

Πίνακας 34: Αποτελέσματα 2^{ου} πειράματος

	PUR _{max} ^{app} (mg PO ₄ -P/gVSS/h)
C (P = 0 ml)	1.87
A (P = 2 ml)	2.09
B (P = 4 ml)	3.62
Μέση τιμή	2.85
Τυπική διακύμανση	0.95

V. Εβδομαδιαία παρακολούθηση συστήματος

➤ Παρακολούθηση 04/11/2020

Πίνακας 35: Μετρήσεις παρακολούθησης 04/11/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	19.3	7.41	-	146	-	69.33	-	-	2.40	1.64
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	19.4	7.44	2.89	83.3	13.95	57.34	-			
13:30	19.5	8.11	4.99	-		35.53	2.3			
14:00	19.6	8.28	5.34	-	-	19.17	4.15			
14:30	19.7	8.31	5.87	-	-	6.64	7.9			
15:00	19.8	8.4	6.1	-	1.6	0.9	10.25	2.78		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:05	-	-	3.46							
15:09	-	-	0.5							
15:10	-	-	0.465							
16:28	20	8.8	-			4.42	3.25	1.31		

➤ Παρακολούθηση 11/11/2020

Πίνακας 36: Μετρήσεις παρακολούθησης 11/11/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	20.1	7.45	-	-	-	62.7	-	-	3.54	2.38
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	20.3	7.43	0.49	-	12.9	72.2	-			
13:30	20.3	7.92	1.88	-		50.5	0.5			
14:00	20.4	8.14	4.16	-	-	33	1.6			
14:30	20.4	8.44	6.59	-	-	20.1	1.45			
15:00	20.4	8.75	6	-	1.08	10.1	9.15	1.03		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:05	-	-	3.13							
15:09	-	-	0.5							
15:10	-	-	0.493							
16:28	20.4	8.63	-			14	1.15	0.461		

➤ Παρακολούθηση 19/11/2020

Πίνακας 37: Μετρήσεις παρακολούθησης 19/11/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	18.2	7.98	-	144	-	18.29	-	-	3.36	2.12
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	18.4	7.9	0.73	84.2	12.23	34.11	-			
13:30	18.6	8.25	2.92			13.98	3.15			
14:00	18.7	8.23	4		-	4.89	6.85			
14:30	18.6	8.35	5.1		-	1.65	10			
15:00	18.7	8.6	7.22		0.37	-	12.6	2.92		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:05	-	-	5.45							
15:10	-	-	4.61							
15:20	-	-	0.5							
16:28	19	8.83	-			-	3.75	1.35		

➤ Παρακολούθηση 25/11/2020

Πίνακας 3278: Μετρήσεις παρακολούθησης 25/11/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	16.8	7.4	-	149	-	47.38	-	-	4.48	2.82
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	17.1	7.53	0.25	90.1	15.76	70.95	-			
13:30	17.2	8.18	0.6			32.63	1.3			
14:00	17.3	8.42	1.07		-	8.79	3.75			
14:30	17.4	8.43	2.76		-	2.12	6.65			
15:00	17.5	8.44	5.7		1.41	-	9.3	2.85		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:11	-	-	0.5							
16:28	17.8	8.78	-			-	2.4	0.998		

➤ Παρακολούθηση 02/12/2020

Πίνακας 39: Μετρήσεις παρακολούθησης 02/12/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	16.2		-	144	-	16.94	-	-	3.40	2.26
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	16.4	8.2	0.1	92.9	10.55	34.52	-			
13:30	16.6		1.08			11.82	0.7			
14:00	25	8.22	1.98		-	1.45	2.9			
14:30	17.2	8.14	4.28		-	-	5.5			
15:00	17.3	8.24	6.5		0.86	-	7.05	2.41		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:15	-	-	0.5							
16:28	17.4	8.47	-			-	0.5	0.57		

➤ Παρακολούθηση 09/12/2020

Πίνακας 4280: Μετρήσεις παρακολούθησης 09/12/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	16.9	7.64	-	76.4	-	31.48	-	-	4.64	2.96
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	17.3	7.45	1.43	74.1	15.64	54.25	-			
13:30	17.5	7.83	4.56			35.79	4.55			
14:00	17.6	7.85	5.28		-	22.8	9.95			
14:30	17.8	7.96	6.71		-	11.01	14.8			
15:00	17.9	8.32	8.02		1.16	2.53	18	4.18		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:25	-	-	0.5							
16:28	18.1	8.63	-			-	13	2.9		

➤ Παρακολούθηση 16/12/2020

Πίνακας 41: Μετρήσεις παρακολούθησης 16/12/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	16.8	7.47	-	154	-	45.22	-	-	5.46	3.72
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	16.7	7.58	1.5	117	19.88	70.74	-			
13:30	17	7.91	2.9			47.78	3.4			
14:00	17.3	7.96	4.07		-	26.37	9.45			
14:30	18.1	8.05	5.73		-	14.04	13.75			
15:00	17.4	8.43	8.13		2.9	3.94	18.7	4.12		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:23	-	-	0.5							
16:28	17.5	8.85	-			-	7.3	1.74		

➤ Παρακολούθηση 23/12/2020

Πίνακας 42: Μετρήσεις παρακολούθησης 23/12/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	16.1	7.54	-		-	38.49	-	-	2.36	1.68
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	16.4	7.33	0.19		11.69	69.6	-			
13:30	17	7.84	0.09			27.58	0.2			
14:00	16.9	8.1	0.08		-	5.29	0.5			
14:30	17	8.29	1.74		-	1.52	3.2			
15:00	17.1	8.24	3.4		2.61	0.6	5.9	1.96		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:04	-	-	0.5							
16:28	17.4	8.31	-			2.66	0.25	0.689		

➤ Παρακολούθηση 29/12/2020

Πίνακας 43: Μετρήσεις παρακολούθησης 29/12/2020

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	16.3	7.35	-		-	59.57	-	-	6.44	4.40
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	16.5	7.39	0.29		11.69	91.62	-			
13:30	16.7	8.19	0.47			39.16	0.25			
14:00	17	8.33	0.389		-	9.26	1.3			
14:30	17.1	8.12	1.01		-	-	4.95			
15:00	17.1	8.11	3.56		2.61	-	9.7	2.29		
ΑΝΟΞΙΚΗ	17.1									
15:08	-	-	0.5							
16:28	17.3	8.41	-			-	0.4	0.487		

➤ Παρακολούθηση 05/01/2021

Πίνακας 44: Μετρήσεις παρακολούθησης 05/01/2021

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	16.4	7.86	-	117	-	15.53	-	-	7.02	4.66
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	16.6	7.72	0.37	51.1	14.67	41.11	-			
13:30	16.8	7.95	1.3			14.45	4.35			
14:00	16.9	7.95	3.84		-	3.47	11.6			
14:30	17.1	8.3	7.29		-	-	14.05			
15:00	17.2	8.51	8.97		2.67	-	12.6	4.23		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:20	-	-	0.5							
16:28	17.4	8.81	-			-	3.45	1.26		

➤ Παρακολούθηση 13/01/2021

Πίνακας 45: Μετρήσεις παρακολούθησης 13/01/2021

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	18.3	7.33	-		-	45.23	-	-	5.30	3.56
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	18.6	7.36	2.1	51.1	20.6	67.52	-			
13:30	18.6	8.15	4.05			24.89	0.2			
14:00	18.6	8.21	4.31		-	8.056	3.05			
14:30	18.7	8.4	5.79		-	5.14	4.5			
15:00	18.8	8.53	6.09		0.8	-	4.05	1.37		
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:08	-	-	0.5							
16:28	18.8	8.28	-			0.73	0.25	-		

➤ Παρακολούθηση 27/01/2021

Πίνακας 46: Μετρήσεις παρακολούθησης 27/01/2021

	T (°C)	pH	DO (mg/l)	COD (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)	PO ₄ -P (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	TSS (g/l)	VSS (g/l)
ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ										
12:01	18.7	7.2	-			58.63			6.4	4.2
ΑΕΡΟΒΙΑ										
13:00	19.3	7.26	1.7		28.41	69.6	-			
13:30	19.3	7.67	4.31		-	58.43	10			
14:00	19.5	7.64	3.1		-	45.16	16.9			
14:30	19.5	7.93	6.72		-	38.16	24.9			
15:00	19.5	8.21	7.35		0.96	27.72	25.5			
ΑΝΟΞΙΚΗ										
15:20	-	-	0.5			-	-			
16:28	19.7	8.6	-			11.22	13.1			